

Indice



| | |
|--|----|
| <i>Editorial</i> | 3 |
| <i>Presentación</i> | 5 |
| <i>Aprovechamiento de las propiedades nutritivas del brócoli para generar un aporte nutricional en pastas alimenticias de tipo-precocido a partir del Extracto Vegetal</i> (Carmen Elena Arroba Buenaño, Mayra Liliana Paredes Escobar) | 7 |
| <i>Determinación del contenido de beta - glucanos en líneas avanzadas y en variedades de cebada procesada y no procesada, por medio de un método enzimático.</i> (Fernanda Moreano, Eleña Villacréz y Roman Rodríguez) | 12 |
| <i>“Estudio de la acción fuertemente quelante del ácido fítico como factor antinutricional en granos andinos y su incidencia en la baja biodisponibilidad de minerales.”</i> (María Belén Riera Sánchez, e Ing. Juan Ramos) | 17 |
| <i>“Utilización de los lodos generados en el proceso de potabilización del agua de la planta de tratamiento “Casigana”, como aditivo para suelos de cultivo”</i> (Fátima Elizabeth Ruiz Mora y Roman Rodríguez, PhD) | 28 |
| <i>Efecto de la adición de harina de quinua (chenopodium quinoa), queso crema y puré de papa (solanum tuberosum) en las propiedades térmicas y sensoriales del paté de camarón (penaeus vanammei) de las variedades: de mar (grande y pomada) y de piscina (mediano)</i> (Angélica Murillo y Diego Salazar) | 33 |
| <i>Evaluación de la calidad nutricional y sensorial de tortillas precocidas elaboradas con papa nativa (solanum andígena) de tres variedades (yema de huevo, leona negra y chaucha roja) y enriquecidas con pasta de chocho (lupinus mutabilis).</i> (Chasi Cristina; Ramos Milton y Silva Mónica) | 42 |
| <i>“Validación del método analítico para la determinación de mercurio en muestras de agua natural, residual y de consumo por medio de espectroscopía de absorción atómica con técnica de vapor frío”</i> (Cristina Alarcón y Roman Rodríguez) | 49 |
| <i>Comparación de las mezclas de harina de trigo (triticum spp) y chocho (lupinus mutabilis) en la evaluación sensorial de pastas</i> (Fernanda Pepe, César German, Mario Álvarez y Mónica Silva) | 56 |
| <i>Caracterización morfológica de semillas y del proceso germinativo de seis especies de orquídeas amenazadas en la provincia de Loja para la conservación en el banco de germoplasma de la UTPL</i> (Rosa Pazmiño y Ramiro Velastegui) | 64 |
| <i>“Aprovechamiento del suero de quesería en la obtención de una bebida fermentada a partir de mezclas con jugo de caña de azúcar (Saccharum officinarum)”</i> (Carlos Benjamín Mosquera Tigse, Gladys Navas Miño) | 75 |

Aprovechamiento de la zanahoria amarilla (daucus carota) tratada enzimáticamente en la obtención de una bebida tipo vino. 83
(Angel Iza y Gladys Navas Miño)

Desarrollo de una tecnología adecuada, respetuosa con la cultura ancestral amazónica para la elaboración de una bebida refrescante de guayusa (ilex guayusa loes) de fácil aceptación por el consumidor del cantón macas, provincia de Morona Santiago 91
Pazmiño, Maricela y Garcés, Lenin.

“Obtención de Enzimas Celulasas a Partir de Hongos (Pleurotus ostreatus, Pleurotus pulmonarius y Lentinula edodes) Utilizando como Sustratos los Residuos del Cultivo del Banano (Musa cavendish)” 96
(Daisy Paredes Medina, Gladys Navas Miño, Mario Álvarez Núñez)

El Efecto de la Sustitución de Grasa Animal (cerdo) por Grasa Vegetal (Danfat FRI – 1333) en la Formulación y Elaboración de Salchichas Frankfurt 106
(Diego Banda Padilla, Diego Salazar Garcés)

Desarrollo de la tecnología en la formulación y elaboración de botón paisa y longaniza para mejorar las oportunidades comerciales de la empresa artesanal San Damián 113
(Dina Elizabeth Pérez Yaguargos, Ing. Diego Salazar)





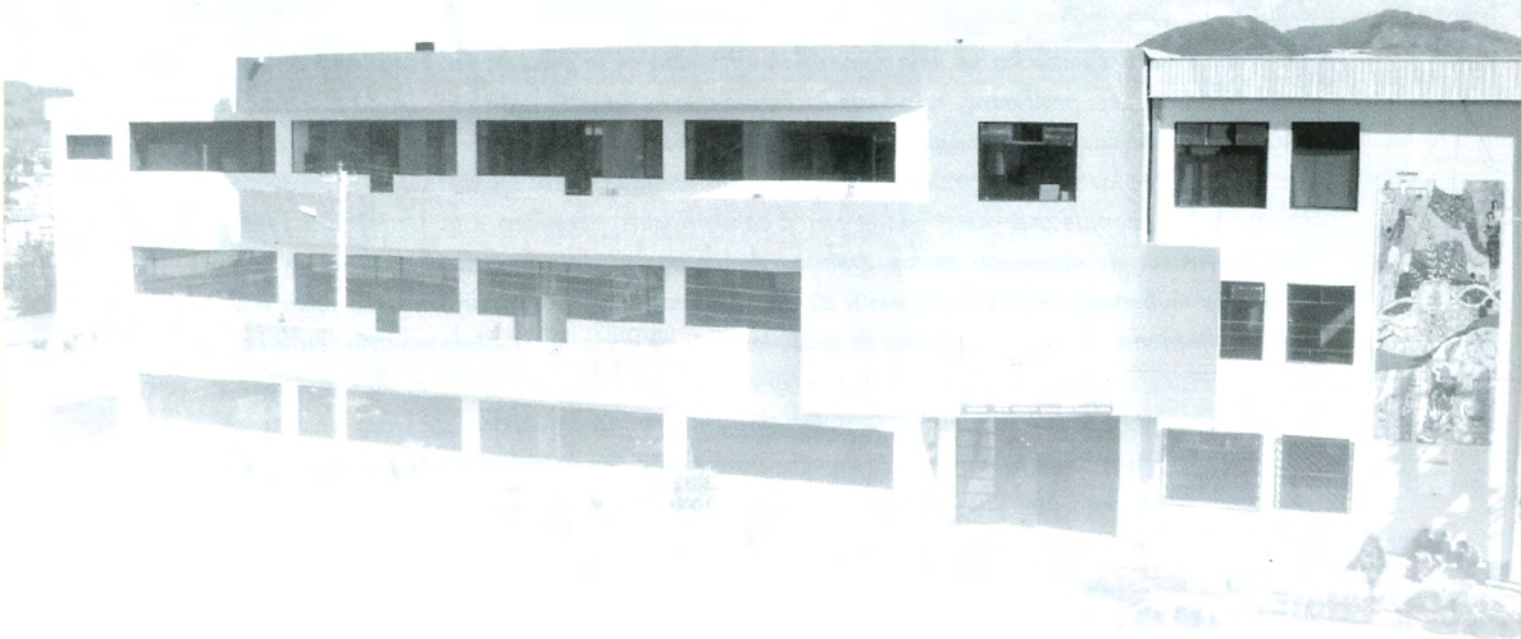
EDITORIAL

El desarrollo debe ser de las personas, por las personas y para las personas y debe ser sostenido, permanentemente; esto presupone una visión integral del desarrollo que va mucho más allá de los agregados económicos. Tiene que ser un proceso rico en valores, que considere el medio ambiente, las relaciones sociales, la cultura, el trabajo y la producción, el consumo, el ejercicio efectivo de los derechos y fundamentalmente que considere el buen vivir de todos los individuos y familias a través de bienes y servicios necesarios para tener vida digna con bienestar y soberanía alimentaria.

En este marco referencial, la investigación en la especialidad de Ingeniería en Alimentos a través de la academia universitaria está obligada a proporcionar continuamente alternativas tecnológicas que permitan alcanzar niveles más altos en su producción, productividad y calidad de los productos para atender la creciente demanda de alimentos sanos, nutritivos e inocuos, debe contribuir poderosamente a la consolidación de la soberanía alimentaria como un derecho ineludible de todos los ecuatorianos en un marco de equidad y sostenibilidad de los recursos naturales y medio ambiente.

Los consumidores actuales no solo demandan eficiencia en la producción, sino también exige más calidad de sus productos, esto hace necesario que la investigación practicada sea innovadora, participativa, haciendo aparecer a los beneficiarios como actores principales de la experimentación, que los mismos como conocedores de la realidad, sean los artífices de ideas innovadoras, las mismas que canalizadas con el conocimiento permitan a la Universidad ser el principal actor de desarrollo en los ámbitos donde se les permite actuar, que tenga como propósito meta una verdadera difusión de pensamiento y de conocimiento, desarrollo, innovación, emprendimiento en beneficio de todos los actores sociales, creando espacios en los que los individuos exijan creación y recreación, que imponga liderazgos críticos, de construcción de conocimiento, de producción de tecnologías para mejorar la calidad de vida, de respeto cultural, de continuo servicio, de pertenencia para actuar en la articulación con los grandes proyectos de país en ámbitos de respeto y permanente consolidación de procesos sociales.

*Ing. M.Sc. Romel Rivera Carvajal
DECANO FCIAL*





PRESENTACIÓN

La Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato se complace en publicar los artículos técnicos de las Tesis de Grado y Trabajos de Investigación desarrollados por sus docentes, investigadores y graduandos, a través de la Revista indexada ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERÍA, Volumen 20(1) - 2012.

Desde hace 20 años, la Revista ha constituido una carta de presentación de la Facultad a nivel nacional e internacional, donde se manifiestan los esfuerzos desplegados por los equipos de investigación de la Facultad, del país y de Iberoamérica, y los avances en el campo de la ciencia y la tecnología alimentaria. Actualmente, en tiempos de evaluación y acreditación institucional y de carreras, la Revista adquiere mayor importancia como evidencia de la difusión permanente de la producción de conocimiento que generan los investigadores de la Facultad.

La presente edición incluye artículos de recientes innovaciones y nuevos desarrollos tecnológicos de productos y procesos alimentarios y, en adición, se enriquece con trabajos de investigación de la nueva Carrera de Ingeniería Bioquímica de la Facultad. Los temas científicos están relacionados con tecnologías ambientales, empleo de enzimas en el análisis químico y procesamiento de alimentos, biotecnología de las fermentaciones, aprovechamiento de residuos de la industria alimentaria, procesamiento de cereales, innovación tecnológica de productos tradicionales, diseño de nuevos productos alimenticios en base a tubérculos, cereales, frutas, hortalizas y leguminosas, entre otros.

Al editar el presente volumen, la Facultad contribuye con la formación de un valioso patrimonio bibliográfico para el país, ofrece a los investigadores la posibilidad de encontrar respuestas adecuadas a las necesidades teórico-prácticas en materia de investigación e innovación tecnológica en el campo alimentario y bioquímico y, quizás más importante, busca responder efectivamente a las necesidades del entorno.

*Ing. Milton Ramos Moya, MS, PhD
SUBDECANO FCIAL*



APROVECHAMIENTO DE LAS PROPIEDADES NUTRITIVAS DEL BRÓCOLI (*Brassica oleracea*) PARA GENERAR UN APORTE NUTRICIONAL EN PASTAS ALIMENTICIAS DE TIPO PRE-COCIDO A PARTIR DEL EXTRACTO VEGETAL

Carmen Elena Arroba Buenaño, Mayra Liliana Paredes Escobar

Universidad Técnica de Ambato
Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
Carrera de Ingeniería en Alimentos
caelabu@gmail.com, mayparedes@hotmail.com

RESUMEN

El brócoli (*Brassica oleracea*) es un vegetal de alto valor nutricional e interés investigativo debido principalmente al contenido de elementos fitoquímicos que han sido relacionados con la prevención de enfermedades cancerígenas. El presente estudio tiene como objeto incrementar el valor nutricional de pastas alimenticias de tipo precocido en base al enriquecimiento de las mismas a partir del extracto vegetal de brócoli (*Brassica oleracea*)

El proceso de obtención de la materia prima, harina precocida, se realizó mediante cocción de harina de trigo en agua (20 y 40 min), secado y molido. La muestra obtenida a partir de 20 min de precocción presentó mayor equilibrio entre las interacciones desarrolladas por el almidón gelatinizado y las proteínas desnaturalizadas en la harina trigo, ofreciendo buenas características farinográficas, y favoreciendo la obtención de pastas alimenticias de alta calidad final.

En base al Código alimentario argentino (2003) se evaluó la calidad física de la pasta obteniendo mejores resultados en firmeza, pérdida por cocción, materia orgánica, y pegajosidad, en las pastas obtenidas con harina de trigo precocida a 20 min.

La mayor aceptabilidad sensorial de las pastas se presentó en las pertenecientes al tratamiento a1b1 del diseño experimental. Las características sensoriales evaluadas fueron: color, olor, sabor, firmeza, pegajosidad, apelmazamiento, y aceptabilidad.

Con la finalidad de identificar el incremento nutricional en el producto terminado se realizó la estimación proximal de la pasta alimenticia de mayor aceptación sensorial. En referencia con la norma técnica ecuatoriana NTE-INEN 1375 para pastas alimenticias se identificó un incremento de 4,1% en el contenido de proteína, 1,75% en fibra, y 0,2% en cenizas en el producto final.

La calidad microbiológica de la pasta precocida se estableció en base a la ausencia de microorganismos patógenos (*E. coli*) en el producto terminado. Así mismo, se garantizó la inocuidad de los procesos de producción y almacenamiento mediante el cumplimiento de los requerimientos microbiológicos establecidos por la NTE INEN 1375 para pastas alimenticias.

INTRODUCCIÓN

El Brócoli (*Brassica oleracea*) es un vegetal perteneciente a la familia de las crucíferas, que comprende también al repollo y al coliflor. Por su variedad y cantidad vitamínica el brócoli ha sido calificado como la hortaliza de mayor valor nutritivo por unidad de peso de producto comestible. Su componente mayoritario es el agua, por lo que su valor calórico es muy bajo. Además, es una excelente fuente de vitamina C, ácido fólico y niacina, y una buena fuente de provitamina A (beta-caroteno), vitamina B1 y E.

patógenos (*E. coli*) en el producto terminado. Así mismo, se garantizó la inocuidad de los procesos de producción y almacenamiento mediante el cumplimiento de los requerimientos microbiológicos establecidos por la NTE INEN 1375 para pastas alimenticias.

De entre todas las propiedades que se le adjudican, la que más llama la atención es su posible acción anticancerígena, gracias a distintas sustancias fitoquímicas, enzimas y antioxidantes que lo convertirían en un alimento preventivo o curativo. En parte, esto es debido a su riqueza en vitamina C, A y E, y en menor cantidad que las anteriores, de ácido fólico. Estos compuestos aumentan la actividad de las enzimas de la fase II del metabolismo, cuya función es la eliminación de agentes cancerígenos del organismo, o el bloqueo de su acción perjudicial.

Entre los minerales que aporta esta verdura se destaca el potasio y sus cantidades significativas de calcio, magnesio, manganeso, cobre, fósforo, zinc, hierro, selenio y azufre.

Además, al brócoli (*Brassica oleracea*) se le atribuyen otras bondades nutritivas, entre ellas se incluyen: su poder laxante, inducido por el alto nivel de fibra, que actúa sobre el nivel de colesterol, y su poder diurético, que favorece la eliminación de líquidos.

OBJETIVOS

General

Establecer parámetros tecnológicos que permitan el aprovechamiento de las propiedades nutritivas de fuentes vegetales como brócoli (*Brassica oleracea*) en el enriquecimiento de pastas pre-cocidas para generar un aporte nutricional significativo.

Específicos

Valorar las muestras de pastas alimenticias pre-cocidas enriquecidas con extracto vegetal de brócoli (*Brassica oleracea*) a partir de la evaluación física del producto terminado seco y cocido.

Identificar el incremento nutricional que se genera en la pasta pre-cocida a partir del enriquecimiento con extracto vegetal de brócoli (*Brassica oleracea*) en base a las estimaciones proximales, en las mejores formulaciones.

Determinar la aceptabilidad de la pasta precocida enriquecida con extracto vegetal de brócoli (*Brassica oleracea*) mediante la aplicación de un análisis sensorial que evalúe los caracteres organolépticos principales.

MATERIALES

Harina de trigo, agua, brócoli (*Brassica oleracea*), goma xantana, lecitina de soya. Materiales de uso común de laboratorio y Procesamientos.

METODOLOGÍA

Obtención de la harina precocida: Se obtuvo a partir de la cocción de una suspensión harina: agua (1:3) durante los tiempos establecidos en el factor "a" del diseño experimental. Posteriormente se llevó a secado mediante convección con aire caliente, a 45°C por un tiempo aproximado de 8 horas hasta obtener 13% de humedad. Se molió y tamizó con la finalidad de obtener harina de granulometría inferior a 212 μ , según lo requerido por la norma INEN 616.

Obtención del extracto vegetal de brócoli (*Brassica oleracea*): Se pasteurizó las inflorescencias del vegetal mediante la infusión de éstas en agua a 60°C durante 20 minutos, hasta que éstas presenten textura ligeramente blanda con la finalidad de facilitar el proceso de pulpatado.

Diseño Experimental

Se aplicó un diseño experimental a*b donde "a" corresponde al tiempo de pre-cocción de la harina de trigo (a0: 0 min, a1: 20 min, a2: 40 min) y "b" al porcentaje de extracto vegetal utilizado en la formulación de la pasta (b0: 10%, b1: 20%, b2: 30%)

Se realizó el análisis de varianza de los datos obtenidos mediante la herramienta estadística Statgraphics

Determinación de Humedad: Método de laboratorio basado en la pérdida de agua del analito. Requiere balanza infrarroja para su determinación.

Evaluación de la harina precocida: Método farinográfico establecido por la marca Brabender. Referencia Asociación Internacional de Química Cerealista (I.C.C.).

Evaluación de la calidad de la pasta alimenticia: Con referencia al Código Alimentario Argentino, Capítulo IX (2003) se evaluó la calidad de la pasta seca y cocida. En pasta seca se determinó: ausencia/presencia de puntos blancos, trizado, color, forma y humedad.

En la pasta cocida se evaluó principalmente los siguientes parámetros:

Porcentaje de hinchamiento: Es la cantidad de agua absorbida durante la cocción. Se determina en base a la relación del peso inicial y final de la pasta en la cocción.

Tiempo de cocción: Se determina en base a la gelatinización del almidón. Cuando el nervio central de color claro del spaghetti desaparece, se establece el tiempo de cocción.

Pérdida por cocción: Es la cantidad de sólidos que pasa al agua. El agua de cocción colada se mantiene aproximadamente 20 horas a 100°C hasta peso constante. Se obtiene un residuo sólido que se pesa para determinar el porcentaje de peso perdido de la muestra (máx. 7 -8 %).

Materia orgánica total: Determinación del material adherido a la pasta responsable de la pegajosidad. Medición realizada a partir del lavado exhaustivo de la superficie de la pasta cocida. Se expresa como g almidón/100g de pasta.

Evaluación sensorial: Se aplicó un diseño de bloques completos para evaluar el efecto del extracto vegetal de brócoli (*Brassica oleracea*) y la calidad de la harina precocida sobre los caracteres sensoriales del producto final.

Los caracteres organolépticos evaluados fueron: color, olor, sabor, pegajosidad, firmeza, apelmazamiento y aceptabilidad, dando a estas variables cualitativas una escala hedónica de seis grados detallados en la respectiva hoja de catación.

Evaluación nutricional: Se realizó la estimación proximal en el laboratorio acreditado del Instituto Nacional de Autóno mo de Investigaciones Agropecuarias INIAP. Método de ensayo MO-LSAIA-01 establecido por la institución.

Evaluación microbiológica: Se evaluó la calidad microbiológica, en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos LACONAL. Métodos de ensayo aplicados según la AOAC para Coliformes totales, E. Coli, Aerobios totales, Mohos y levaduras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación farinográfica de la harina pre cocida

En la **Tabla N.1** se muestra la calidad farinográfica de las harinas obtenidas en los diferentes tiempos de precocción. Se identifica que a 20 minutos de precocción se requiere menor tiempo de desarrollo para alcanzar la máxima consistencia, y existe mayor estabilidad durante el proceso de amasado. Por tanto, la modificación controlada de almidones (20 min precocción) mediante la gelatinización favorece la funcionalidad de la materia prima para la obtención de pastas alimenticias. Caso contrario, ocurre una dextrinización que altera por completo la calidad final de la harina obtenida.

Tabla 1. "Interpretación Farinográfica de harinas"

| MUESTRA | Índice de Absorción (%) | | Tiempo de desarrollo (min) | | Tiempo de estabilidad (min) | |
|-------------------------------------|-------------------------|------|----------------------------|------|-----------------------------|------|
| | R1 | R2 | R1 | R2 | R1 | R2 |
| a ₀ : 0 min precocción | 69.6 | 66.0 | 3.0 | 4.0 | 14.5 | 13.5 |
| a ₁ : 20 min precocción* | 57.4 | 58.4 | 6.5 | 9.2 | 6.2 | 8.5 |
| a ₂ : 40 min precocción* | 69.2 | 66.8 | 13.5 | 12.5 | 5.3 | 7.5* |

* En el análisis farinográfico de las harinas de trigo con 20 y 40 min de precocción se utilizó 35 gramos de muestra
* La muestra presenta estabilidad bajo las 500 UB

Fuente: Laboratorio de Cereales UTA FCIAL

Evaluación fisicoquímica del producto terminado

Pasta seca: Se determinaron las características fisicoquímicas más importantes de la pasta seca: color, picaduras, puntos blancos, trizado o azoado, y humedad. Las pastas elaboradas con harina precocida durante 20 minutos no se rompen, ni trizan fácilmente, no presentan puntos blancos en su superficie, lo que indica su buena homogenización y estabilidad en el proceso de producción y secado.

Pasta cocida: Las pastas elaboradas con harina del nivel a1 presentan un comportamiento estable ante la cocción. Son elásticas y homogéneas, no se rompen, ni apelmazan. A pesar de ello, presentan ligera pegajosidad en su superficie debido a la desnaturalización parcial del gluten durante la obtención de harina precocida.

Mientras tanto, las pastas del nivel a2 presentan menor estabilidad, la proteína se encuentra totalmente desnaturalizada y el almidón dextrinizado. La fuerza del retículo proteína-almidón es inferior, lo que la dispersión del almidón al exterior es alta, atribuyendo así la alta pegajosidad de la pasta cocida.

Comportamiento en la cocción:

Porcentaje de hinchamiento: La cantidad de agua absorbida dependió del grado de modificación del almidón en el tratamiento de precocción. A mayor exposición térmica se tiene mayor cantidad de dextrinas, por tanto la capacidad de absorción de agua disminuye. Las pastas obtenidas en el nivel a0 incrementaron aproximadamente cuatro veces su volumen inicial (>100%), mientras que las muestras del nivel a1 y a2 presentaron en promedio 85,96% y 46% de absorción, respectivamente.

Tiempo de cocción: Se muestra inversamente proporcional al estado nativo del almidón; es decir, a mayor cantidad de almidón gelatinizado menor tiempo de cocción.

Las pastas obtenidas en el nivel a2 requieren un tiempo máximo de cocción de 2 minutos y 30 segundos, mientras que las pertenecientes al nivel a1 requieren un minuto más para su cocción. La diferencia no es significativa, sin embargo, en relación a las muestras patrón (nivel a0) éstas difieren considerablemente ya que se cuecen en la mitad de tiempo que una pasta común.

Pérdida por cocción: Responsable de la turbidez del agua. Las pastas del nivel a2 presentan mayor pérdida de soluto, por lo que el agua de cocción es considerablemente turbia. Mientras tanto, las muestras del nivel a1 presentan mayor estabilidad del almidón en el proceso de cocción. En promedio alcanzan el 6,5% de pérdida por cocción, mismo que se encuentra dentro del rango permitido por el código alimentario argentino (2003).

Materia orgánica total: Presenta estrecha relación con la calidad de las proteínas presentes en la estructura de la pasta. En promedio se identificó que existe mayor desprendimiento de materia orgánica en las pastas que presentan mayor cantidad de almidón dañado. Es decir, aquellas pertenecientes al nivel a2 del diseño experimental. En efecto, la pegajosidad de los productos cocidos es mayor.

Evaluación Sensorial

Se evaluó los principales caracteres organolépticos de las pastas obtenidas en la parte experimental; color, olor, sabor, firmeza, pegajosidad, apelmazamiento, y aceptabilidad.

A un nivel de confianza del 95% los atributos sensoriales color, olor, y sabor, que presentaron mayor valoración correspondieron a las pastas formuladas con 20% de extracto vegetal.

Las pastas que presentaron mayor firmeza, menor pegajosidad, y mínimo apelmazamiento con respecto a la muestra patrón fueron obtenidas a partir del nivel a1: 20 min de precocción

Evaluación nutricional

Al realizar la estimación proximal de la pasta de mayor aceptación sensorial, 20min precocción y 20% extracto vegetal, se identificó el incremento nutricional del producto final por efecto de su enriquecimiento con extracto vegetal de brócoli (*Brassica oleracea*). La Tabla N.2 muestra el aumento de 4.1% de proteína y 0.2% de cenizas con referencia a las pastas alimenticias elaboradas con harina fuerte 100% de trigo. El contenido de fibra se considera como agregado pues no existe especificación en la norma NTE INEN 1375

Tabla N.2 "Composición Proximal de Pastas Alimenticias"

| Componente | Tratamiento a ₁ b ₁ | Referencia NTE INEN 1375 | |
|-----------------------|---|--------------------------|----------------------|
| | | Con vegetales | 100% Harina de Trigo |
| Humedad (%) | 10,81 | Máx. 14 | Máx. 14 |
| Cenizas | 1,05 | Máx. 1,5 | Máx. 0,85 |
| Extracto etéreo | 0,24 | N/E | N/E |
| Proteína | 14,4 | Mín. 10 | Mín. 10,5 |
| Fibra | 1,75 | N/E | N/E |
| Carbohidratos Totales | 82,57 | N/E | N/E |

Fuente: INIAP 2010

Evaluación microbiológica

Se evaluó la calidad microbiológica de la pasta alimenticia de tipo precocida de mayor aceptación, encontrándose mínima presencia de aerobios y coliformes totales, mohos y levaduras, y ausencia de *E. coli*. Por tanto, se valida la inocuidad de los procesos de producción pues cumple con los requisitos establecidos por la NTE INEN 1375 para pastas alimenticias, calificándola como apta para el consumo humano.

CONCLUSIONES

Los parámetros tecnológicos que permiten la obtención de pastas alimenticias de tipo precocido enriquecidas con extracto vegetal de brócoli (*Brassica oleracea*) son 20 minutos de precocción de la harina de trigo, y 20% de extracto vegetal aplicado en la formulación de la pasta. Así, se incrementa el valor nutricional de la pasta alimenticia y reduce el tiempo de cocción. Los parámetros establecidos se determinaron en base a la mayor estimación sensorial por parte de los catadores.

La mayor valoración de calidad de las pastas alimenticias de tipo precocido se determinó en las muestras obtenidas con harina tratada térmicamente durante 20 minutos. Las pastas presentan mayor estabilidad y fortaleza durante las operaciones de producción y cocción. No se identifica ruptura ni apelmazamiento. Además, existe menor pérdida de solutos y materia orgánica, la pegajosidad de su superficie es baja.

El valor nutricional de la pasta precocida enriquecida con extracto vegetal de brócoli (*Brassica oleracea*) incrementó en 4,1% de proteína, 1,75%, fibra y 0,2%, cenizas con referencia a las pastas alimenticias simples.

REFERENCIAS

- CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO (2003) Art. 714, capítulo IX: alimentos farináceos - cereales, harinas y derivados.
- CODEX STANDARD FOR INSTANT NOODLES. CODEX STAN 249-2006.
- COMBARIZA et al. (2006) "Estudio de la obtención de un alimento precocido a partir de cultivos biofortificados"
- CORPEI 2009 "Brócoli"
- OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS, 1995, Procedimiento para la preparación de pastas alimenticias secadas, publicación ES 2 069 159.
- FARNHAM M.W. et al 2009, "Importance of Genotype on Carotenoid and Chlorophyll Levels in Broccoli Heads". HortScience. Vol 44. Pp.: 1248-1253
- Levels in Broccoli Heads". HortScience. Vol 44. Pp.: 1248-1253
- FRANCESCÁNGELI Nora, MARTÍ Héctor, 2001, "Evaluación de cultivares y fechas de siembra. Producción de Brócoli en Invernadero". INTA San Pedro, Buenos Aires.
- Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Tabla de Composición de Alimentos de América Latina – Brócoli.
- Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación (FAO), 2010, "El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo"
- Observaciones de la Comunidad Europea para el Comité del Codex sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos, 2001, La Haya, - CL 2000/33 – FAC
- PEREZ PAUL, et al, 2010, "Pan y Pastas alimenticias: Estudio Bromatológico".
- RIEDL M.A., SAXON A., and D. DIAZ-SANCHEZ, 2009, "Oral sulforaphane increases Phase II antioxidant enzymes in the human upper airway" Clinical Immunology, Vol. 130, Issue 3, Pp. 244-251.
- SALTOS Aníbal (1982) "Diseño Experimental", Edición única, Ambato – Ecuador, 111 pp.
- SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA, PESCA Y ALIMENTOS, 2009, "Pasta Secas".
- INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN (1985) Tabla de composición de los alimentos Ecuatorianos – "Harina de trigo extranjera", Quito- Ecuador
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 616 Harina de Trigo
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 108. Agua
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 57:2006, Sal
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1375. Pastas alimenticias

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE BETA - GLUCANOS EN LÍNEAS AVANZADAS Y EN VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA, POR MEDIO DE UN MÉTODO ENZIMÁTICO.

*Fernanda Moreano, Elena Villacréz y Roman Rodríguez
ferjack86@yahoo.es*

**Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica, Av. Los Chasquis y Río Payamino. Campus Académico Huachi, teléfono: 2400987
Ambato, Ecuador.**

**Instituto Autónomo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Departamento de Nutrición y Calidad,
km 14 vía Quito-Alóag, parroquia Cutuglagua.
Quito, Ecuador**

caelabu@gmail.com, mayparedes@hotmail.com

Resumen

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de clasificar las diferentes variedades y líneas de cebada existentes en nuestro país, para posteriormente orientar su uso de acuerdo al contenido de beta-glucanos. Analizando el contenido de beta-glucanos en 70 muestras de cebada (*Hordeum vulgare* L.), a través de un método enzimático, y se seleccionaron los genotipos con mayor concentración de beta-glucanos, para la cuantificación de fibra dietética, además se analizó el efecto de la cocción, el tostado, escarificado y malteado, con el objeto de identificar un proceso apropiado para la potenciación de los beta-glucanos, compuestos funcionales de interés, por su efecto benéfico en la disminución del colesterol y la glucosa en la sangre.

Palabras Claves: Cebada, Beta-glucanos, Fibra dietética, Genotipos.

Introducción

La cebada es uno de los cultivos más importantes de la sierra ecuatoriana, en la provincia de Chimborazo se registra la mayor superficie dedicada a su cultivo con 18000 ha que se producen a nivel nacional, seguido por la provincia de Cotopaxi 10000 ha. Es importante señalar que gran parte de la cebada cultivada en las comunidades indígenas de estas provincias es utilizada para autoconsumo. Los excedentes son comercializados para obtener ingresos económicos.

Además la cebada es un cereal nutritivo, que proporciona proteína, energía, vitaminas, minerales y una distribución equilibrada de aminoácidos (Mazza, 2000).

Alrededor del 75% de la pared celular del endospermo de la cebada se encuentra constituido por polisacáridos solubles y oligosacáridos que incluyen moléculas con un grado de polimerización que va desde 15 hasta más de 2000 unidades denominados beta-glucanos, los que se encuentran formando parte de la fibra alimentaria soluble, y tienen la capacidad de mejorar la función del colon y reducir el riesgo de cáncer (Bert et al., 1999).

En las capas externas del grano se concentran muchos otros componentes (con funciones determinadas) como ceras, ligninas, fitatos, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos, los mismos que presentan determinadas funciones como por ejemplo, poder antioxidante y propiedades farmacológicas.

Específicamente, los beta-glucanos actúan estimulando el crecimiento de bacterias del tracto intestinal, como fuente energética para la microflora benéfica, mejorando así el tránsito intestinal y disminuyendo el colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (colesterol-LDL) (Lee et al, 1997).

Los beta-glucanos reducen el riesgo de enfermedades coronarias ya que modifican los lípidos sanguíneos y atenúan las respuestas de la glucosa y de la insulina en la sangre, acción fisiológica importante para las personas que padecen diabetes. (Mazza, 2000).

La presencia de beta - glucanos en la cebada se debe a un gen específico presente en cada uno de los genotipos. Además se reportan valores variables, en diferentes cereales por ejemplo se señala que las mayores concentraciones de beta - glucanos se encuentran en la cebada (3-11%) y en la avena (3-7%), concentraciones menores en el centeno (1-2%) y en el trigo (<1%). En el maíz, sorgo, arroz y otros cereales alimentarios importantes solo se han encontrado trazas (Mazza, 2000). (Jadhav, 1998).

Los resultados de esta investigación, permitirán orientar la utilización de genotipos con alto contenido de beta-glucanos, como un alimento funcional que además de contribuir con nutrientes, proporcionan un efecto beneficioso para la salud. (Mataix, 2002)

En contraste, debido a que el 98% de cebada que requiere la empresa privada se importa desde Chile, Alemania o Estados Unidos, estos tienen interés en impulsar la producción nacional debido a los altos costos del producto importado, iniciando con la presente investigación el programa de selección de materiales con características cerveceras y con un bajo contenido de beta-glucanos, ya que contenidos elevados de estos compuestos retardan la filtración de los mostos y provocan turbidez en la cerveza (Bert et al., 1999).

Materiales y métodos

Materiales

Se ha utilizado los laboratorios análisis del Departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias provistos de todo tipo de material de laboratorio y equipos como: Molino semi industrial modelo 879-D, molino de café Cuisinart Coffe Grinder modelo DCG-20N, balanzas técnicas tipo P-1200 y analítica modelo Adventure Pro AV213, termostato marca fisher scientiic Isotemp 2100, plancha de agitación thermo Scientific, baño maría modelo WB-12735E, Centrifuga modelo K N°AC2363, viscosímetro capilar de vidrio Cannon Frenske, Escarificador Strong Scott modelo 17810, macerador micromant Co, vortex mixer modelo VM-300, estufa de aire forzado modelo HS 122^a, estufa memmert 854 schwabach, pH metro metrohm 827, y un equipo completo para el malteado del grano diseñado a escala de laboratorio. Como materia prima se ha utilizado 70 diferentes genotipos de cebada.

Métodos

Contenido de beta-glucanos

(Figueroa, 1985)

Para determinar el contenido de beta-glucanos primeramente se empieza por determinar el grado o factibilidad de modificación de los almidones en azúcares por acción de las enzimas, lo cual es un buen indicador de la cantidad de sustancia que se pueden extraer de la malta. La modificación del almidón presente en el endospermo de la cebada está en función del grado de ramificación de las moléculas de amilopectina y de la cantidad de amilosa.

El proceso de hidrólisis comienza cuando la muestra presenta tamaño óptimo de partícula (molienda fina) para que el almidón esté disponible al ataque enzimático y al procurarse un medio acuoso para que la masa quede totalmente remojada y pueda liberar y activar la beta amilasa y algunas sustancias solubles como los azúcares. El proceso de modificación propiamente dicho comienza al elevarse la temperatura de 20°C hasta 50°C, y mantenerse esta última por 10 minutos, gracias a este cambio térmico los almidones en presencia de agua son convertidos en engrudo (gelatinización), para luego ser filtrados obteniendo así el extracto potencial.

Seguidamente se procede a precipitar los beta-glucanos con sulfato de amonio, hidrolizarlos en medio ácido con una solución de Antrona al 0.1% p/v en ácido sulfúrico del 85%, para transformarlos en glucosa, la cual se evalúa por espectrofotometría a una longitud de onda de 625nm. Finalmente para determinar el porcentaje de beta-glucanos se utiliza la siguiente formula:

$$\text{Glucosa en mg / 100g de malta (base seca)} = \frac{\text{mg glucosa}}{\text{dm}^3 \text{ mosto}} \cdot \frac{A}{d \cdot B} = \frac{\text{mg glucosa}}{\text{dm}^3 \text{ mosto}} \cdot \frac{A}{10^{**} P \cdot d}$$

Dónde:

d = densidad del mosto

°P = grado plato = % de sólido P/V

A = g extracto / 100 g malta (base seca)

B = g de extracto / 100 g de mosto

Cuantificación de la fibra dietética soluble

Método 991.42 y Método 993.19 (A.O.A.C., 1995). Adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP.

El almidón y las proteínas son digeridos en pequeños fragmentos por medio de enzimas. La fracción de fibra dietética insoluble es separada por filtración. La fracción de fibra dietética soluble es recuperada por filtración luego de precipitar con etanol.

$$\frac{(\text{valor promedio(mg) FD no corregida}) - (\text{ceniza} + \text{proteína} + \text{blanco corregido})}{\text{promedio peso de muestra (mg)}}$$

Lo cual se consigue mediante los siguientes puntos:

- Análisis de proteína.

Método N° 10.177 (A.O.A.C., 1997). Adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP.

El nitrógeno de las proteínas y otros compuestos se transforman en sulfato de amonio al ser digeridas en ácido sulfúrico en ebullición. El residuo se enfría, se diluye con agua y se agrega hidróxido de sodio.

El amonio presente se desprende y a la vez se destila y se recibe en una solución de ácido bórico, que luego se titula con ácido sulfúrico estandarizado.

$$P(\%) = \frac{(Ma - Mb) * N * 0.014 * 6.25}{Pm} * 100$$

Método N° 923.03 de la A.O.A.C. Adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Santa Catalina, INIAP.

La muestra es incinerada en un horno o mufla a 600°C, previa pre calcinación en una placa calentadora o reverbero, para eliminar todo el material orgánico. El material inorgánico que no se destruye se llama ceniza.

$$C(\%) = \frac{P_{cz} - P_c}{P_{cm} - P_c} * 100$$

Procesado de las muestras.

El escarificado se realizó en un equipo Strong Scott modelo 17810, mediante un sistema abrasivo, durante 40 segundos. Se tostó el grano a 120°C, durante 15 minutos. La cocción se llevó a cabo en un sistema de olla abierta durante 30 minutos. el malteo del grano comprendió:

remojo por 48 horas, germinación durante 4 días, a 100% de humedad relativa y 16°C, seguido de un proceso de tostado, siguiendo un programa de temperatura hasta alcanzar 70°C.

Resultados y discusión

Contenido de beta-glucanos

La figura 1, muestra un rango de variación de los beta-glucanos desde 0,38% a 3.74%, debido al genotipo del grano. Los genotipos desnudos del grupo CN (sin cascara), presentaron menores contenidos, debido a que los beta-glucanos abundan en las porciones externas del grano como constituyentes de la pared celular en un 75%



Figura 1. Contenido de beta-glucanos en 70 líneas o variedades de cebada en estado nativo.

Por el contrario, los genotipos cubiertos (con cascara), tanto dísticos (CD) como hexásticos (CH) presentaron valores mayores a 2.48%, como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. Muestras de cebada con alto contenido en beta-glucanos

| Muestras | %Beta-glucanos |
|----------------|----------------|
| INIAP GUARANGA | 3,74 |
| CD-09-009 | 3,72 |
| CM-09-007 | 3,63 |
| CH-09-010 | 3,52 |
| CH-09-012 | 3,5 |
| CD-09-013 | 3,45 |
| INIAP CAÑICAPA | 3,3 |
| CD-09-008 | 3,12 |
| CH-09-011 | 3,01 |
| CH-09-009 | 3 |
| CH-09-006 | 2,6 |
| CH-09-014 | 2,48 |

Contenido de fibra dietética

Los beta-glucanos son los componentes mayoritarios fibra dietética soluble, lo que orientó su determinación en los materiales con mayor contenido de beta-glucanos.

La Figura 2, muestra que la variedad INIAP Guaranga presentó el mayor contenido de fibra dietética con 8.58%, ubicándose en el primer rango estadístico. Seguida de tres líneas promisorias, una variedad de dos hileras, 1 línea maltera y 4 líneas del tipo hexástica,



Figura 2. Contenido de Fibra dietética soluble en genotipos de cebada con mayor contenido de beta-glucanos; cuyos valores fluctuaron entre 4.42 a 7.31%, que se ubicaron en un rango estadístico intermedio; y finalmente cuatro líneas de 6 hileras se ubicaron en el segundo rango estadístico presentando valores que van desde 3.74 % hasta 4.48% de fibra dietética soluble.

Relación entre el contenido de beta-glucanos y fibra dietética soluble

La figura 3 y 4 muestra la relación directa que existe entre fibra dietética soluble y beta-glucanos con ecuación de correlación para el caso de las cebadas de 2 hileras es: $y=5.064x-10.93$ y para las de 6 hileras es: $y=1.244x+0.769$, ya que un cambio en el contenido de beta-glucanos produce un cambio en el porcentaje de fibra dietética soluble, corroborando así que los beta-glucanos es el compuesto mayoritario en la fibra dietética soluble.

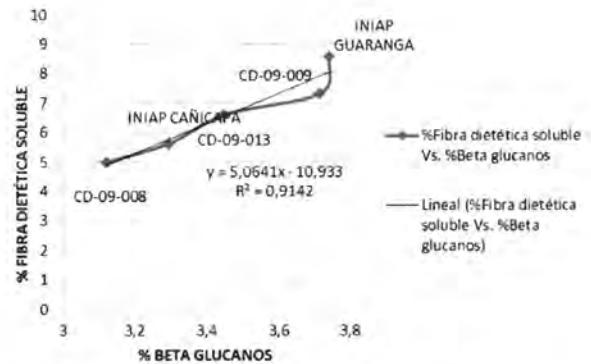


Figura 3. Relación entre el contenido de beta-glucanos y fibra dietética soluble, en genotipos dísticos de cebada.

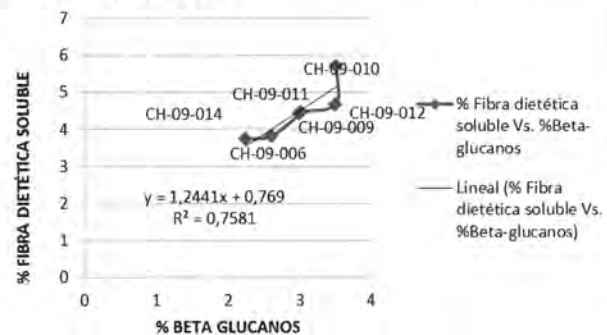


Figura 4. Relación entre el contenido de beta-glucanos y fibra dietética soluble, en genotipos hexásticos de cebada.

Cabe recalcar que el presente análisis es necesario realizarse entre líneas y variedades del mismo genotipo, por lo que la línea maltera no fue sometida a dicho análisis por tener datos escasos.

Efecto del procesamiento en el grano, sobre el contenido de beta-glucanos

La cebada al ser procesada se encuentra expuesta a diversos cambios en su constitución física y por ende en su constitución química, provocando así variación en el contenido de beta-glucanos.

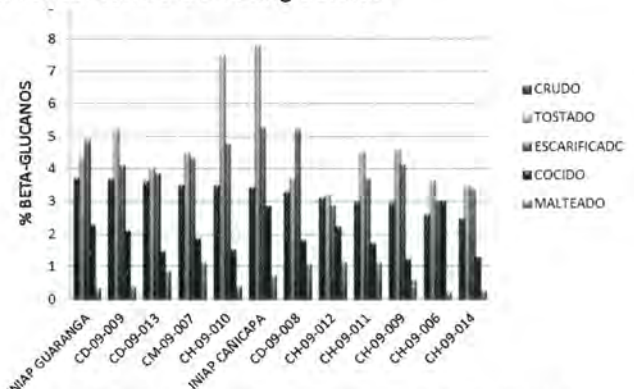


Figura 5. Efecto de cuatro procesos, sobre el contenido de beta-glucanos del grano de cebada.

La Figura 5, muestra que en el proceso tostado del grano, el incremento de beta-glucanos se debe a que se provocó la desnaturalización de las proteínas, en este caso de las beta-glucanasas. Al no presentarse estas enzimas en el mosto, no hubo degradación de beta-glucanos y su concentración presentó un aumento del 49,82% de beta-glucanos con respecto al grano no procesado.

En el grano escarificado, el aumento de la concentración de beta-glucanos fue del 28.13% en relación al grano no procesado, debido que al escarificar se despoja al grano de toda su cubierta, incluso de la aleurona, dejando visible al endospermo (lugar en donde se encuentra el 75% de beta-glucanos), por lo que la molienda se torna más fina y por ende hace que la extracción de los beta-glucanos sea más fácil.

En cuanto al proceso de cocción del grano, hay pérdidas producidas por solubilización, cuando el medio de cocción es el agua. Contribuyendo a la disminución drástica (39.47%) en el contenido de beta-glucanos, con respecto al grano no procesado.

Por último, con respecto al malteo, se desarrollan y activan sistemas enzimáticos y modifican suficientemente sus reservas alimenticias, quedando activa la acción modificadora de las beta-glucanasas, lo que provocó un descenso drástico del 78.14% de beta-glucanos, con respecto al grano no procesado.

Conclusiones

Al finalizar la investigación se ajustó la clasificación de las líneas y/o variedades de cebada de acuerdo al uso industrial o de consumo. Tomando en cuenta todos los análisis de datos anteriormente expuestos. Por lo que para poder realizar su clasificación a nivel industrial para la elaboración de cerveza, se tomó mucho en cuenta que la fibra soluble de la cerveza está constituida por (1-3),(1-4)- β -D-glucanos y arabinosilanos o pentosanos, y que por ende estas están directamente relacionadas entre sí.

Los beta-glucanos son parcialmente degradados en la germinación por acción enzimática, pero esta acción es limitada por lo que estos permanecen en el mosto y en la cerveza, causando problemas como; aumento de la viscosidad, dificultades en la filtración, formación de enturbiamientos o precipitados gelatinosos en cervezas envasadas, por lo que en muchos casos es frecuente la adición de beta-glucanasas comerciales para completar su despolimerización hasta niveles que van de 0 a 0.42% de beta-glucanos, donde ya no causen estos problemas en las industrias cerveceras.

Razón por la cual se presenta al programa de cereales del INIAP (Figura1) 38 materiales con características cerveceras ya que se comprobó que al maltearlas presentan un decrecimiento del 78.14% de concentración de beta-glucanos, poniendo así énfasis en el interés que presenta la empresa privada por impulsar la producción nacional, debido a los altos costos que está contrayendo por obtener el producto importado.

Sin menospreciar a los 32 materiales restantes, que son útiles para la alimentación, debiendo potenciar su contenido de beta-glucanos tostándolos o escarificándolos.

Agradecimiento

A la Universidad Técnica de Ambato, a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica

Al laboratorio de Nutrición y Calidad del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) Estación Santa Catalina,

Referencias

- BERT, L., APPOLONIA, D., and SCHWARZ, P. Importance of cereal non - starchy polysaccharides in end-products. Agricultural Experiment Station as Journal Series, 2(9), 43-55, 1999.
- FIGUEROA, J. Métodos para evaluar la calidad maltera en cebada. México, Insurgentes Sur, 1985. 1 - 115.
- JADHAV, S., EDNEY, M. and JELACA, S. Barley: Chemistry and values - added processing. Critical Reviews in Food Science, 38(2), 123-171, 1998.
- LEE, C., SCHWARZ, P. and KUNDIG, W. Comparisons of β -glucan content of barley and oat. Nonwheat grains and products, 74(5), 1-5, 1997.
- MATAIX, J. Nutrición y alimentación humana. Madrid - España, Ergon S., 2002. 119-122
- MAZZA, G. Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado. España, Acribia, 2000. 1-32 p.
- OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, Association of Official Analytical Chemists (A. O. A. C.), 14nd. ed. Virginia (USA), The William Byrd, 1984. 16, 213.
- OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, Association of Official Analytical Chemists (A. O. A. C.), 16nd. ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists., 1995.

.....
Roman Rodríguez, Dr. Rer. Nat., Ph.D.

DIRECTOR DE TESIS



“ESTUDIO DE LA ACCIÓN FUERTEMENTE QUELANTE DEL ÁCIDO FÍTICO COMO FACTOR ANTINUTRICIONAL EN GRANOS ANDINOS Y SU INCIDENCIA EN LA BAJA BIODISPONIBILIDAD DE MINERALES.”

MARÍA BELÉN RIERA SÁNCHEZ , E ING. JUAN RAMOS

Departamento de Nutrición y Calidad, Estación Experimental Santa Catalina, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Panamericana Sur Km 1, Quito -Ecuador, email: mabely1919_@hotmail.com

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Av. Los Shyris. Campus Huachi, Ambato -Ecuador, email: juanenriquefcial@hotmail.com

RESUMEN

En etapas de la vida en las que se produce un rápido crecimiento corporal y la demanda de nutrientes es mayor, se hace necesario optimizar la absorción de nutrientes a fin de evitar deficiencias. El ácido fítico (inositol fosfato) presente en cereales y otros granos puede inhibir de forma significativa la absorción de minerales mediante la formación de complejos insolubles con minerales, como el hierro no hemo, el calcio y el zinc; comprometiendo el desempeño de las proteínas. Por ello, es de gran importancia tratar de establecer los tratamientos tecnológicos necesarios para que la utilización de estos nutrientes esenciales sea al máximo.

En la presente investigación, se determinó el contenido de ácido fítico en las siguientes líneas y/o variedades: chocho (*Lupinus Mutabilis Sweet*), quinua (*Chenopodium quinua Willd*), amaranto (*Amaranthus Caudatus L.*) y sangorache (*Amaranthus Hybridus L.*); que son granos de origen andino. Se comprobó que de las cuatro especies consideradas en este estudio el amaranto y el sangorache presentaron el mayor contenido de ácido fítico (1.25%) mientras que el chocho registró el menor contenido (1.10%).

Se analizó los efectos de los tratamientos térmicos (cocción en agua, fritura, y tostado), comprobándose la efectividad del proceso de cocción en la disminución de ácido fítico, especialmente en el chocho y en menor grado en el sangorache. Contrariamente los procesos de tostado y la fritura del amaranto, quinua, sangorache y chocho produjeron un marcado incremento en el contenido de ácido fítico; con respecto al valor registrado en los granos crudos.

El estudio de la biodisponibilidad de minerales se realizó con granos crudos y cocidos ya que en este proceso disminuyó sustancialmente el contenido de ácido fítico.

La biodisponibilidad de los minerales se calculó a partir del porcentaje dializado tras la digestión in vitro de los granos cocidos y molidos. Los resultados revelaron que la biodisponibilidad del fósforo, hierro, y zinc son insignificantes con niveles de absorción entre 0% al 0.9%. Estos resultados hacen suponer que el ácido fítico no es el único antinutricional que compromete la disponibilidad de dichos minerales en los granos andinos en estudio. La biodisponibilidad del calcio también fue insignificante para la mayoría de los granos en estudio excepto la quinua que mostró una biodisponibilidad de 12.64%. Para los demás elementos se determinó adecuados niveles de biodisponibilidad; así para el potasio 34.79%, magnesio 41.19%, sodio 15.48%, cobre 51% y manganeso 16.13% en todas las líneas y/o variedades.

Para la digestibilidad proteica se trabajó con una solución multienzimática este método se da a través de la simulación de un proceso digestivo con enzimas de origen animal, como son: Tripsina, Chymotripsina y Peptidasa Pancreática; revelando que el cocimiento contribuyó a mejorar la digestibilidad de la proteína en todas las especies en estudio; las líneas y/o variedades que presentan mayor digestibilidad proteica son las de chocho alcanzando valores del 90%. En el caso del amaranto, sangorache y quinua los valores de digestibilidad fluctuaron entre 77 y 84% el menor valor registrado fue para el sangorache ECU-0069 con 77,3% en estado crudo.

Análogamente el mayor contenido de lisina disponible deja ver que de las especies estudiadas el chocho presentó mayor contenido de lisina disponible (1.19 gr/100 gr proteína), lo cual se correlaciona con el mayor contenido de proteína digerible tanto en el grano crudo como en el cocido. El sangorache presentó menor contenido de lisina disponible (0.47 gr/100 gr proteína).

Palabras clave: Acido fítico, fitatos, digestibilidad proteica, biodisponibilidad, lisina, minerales, granos andinos.

INTRODUCCION

Los granos andinos han jugado un papel muy importante en la historia de la civilización y son la base de la nutrición en gran parte del mundo, es por ello que han sido objeto de numerosas investigaciones y publicaciones. Actualmente en muchos países el consumidor exige no sólo productos de calidad sino también variedad, así por ejemplo en lo que se refiere a las harinas de cereales diferentes al trigo esto se puede aplicar también a otros cereales y a algunos pseudo cereales como la quinua y el amaranto.

Teniendo en cuenta la composición, el valor nutritivo y la funcionalidad de estos granos se pueden cubrir muy bien las diferentes demandas de los consumidores.

Los pseudo cereales como la quinua y otros afines cultivados en los Andes son plantas que forman semillas que tienen excelentes propiedades nutritivas, ácidos grasos poli insaturados y un alto contenido en minerales; estas semillas no contienen las proteínas que forman el gluten por lo tanto sus harinas son adecuadas una vez que se han eliminado los componentes no deseables y de esa manera se obtiene formulaciones para las personas intolerantes al gluten (celiacos).

Éste es también el caso del amaranto y el trigo sarraceno, que además se pueden utilizar para la elaboración de productos de cervecería exentos de gluten. Por muchas razones cada vez se hace más necesario proporcionar al mercado productos sujetos a un control estricto de calidad. Las leguminosas poseen componentes no nutritivos que pueden dificultar la asimilación de algunos elementos nutritivos pudiendo causar efectos fisiológicos poco deseables o incluso pueden llegar a ser tóxicos (ácido fítico).

Desde el punto de vista bioquímico dichos compuestos son de distinta naturaleza y su presencia y concentración son variables en función de la leguminosa considerada.

En Latinoamérica las semillas de cereales y leguminosas son alimentos con gran acogida; contienen simultáneamente carbohidratos, proteínas, lípidos y algunos micronutrientes como vitaminas y minerales disponibles para la alimentación directa e indirecta del hombre; razón por la cual durante

muchos años han constituido la fuente principal para el suministro de energía y proteína especialmente en los países pobres. El ácido fítico cada día está siendo mucho más estudiado y sobre todo en las zonas interandinas donde estos productos son abundantes encontrando niveles de desnutrición alto. Sin embargo, algunas semillas especialmente las leguminosas presentan en su composición sustancias antinutricionales como es el caso del ácido fítico. Por tanto, el conocimiento relacionado con la naturaleza y comportamiento de los factores antinutricionales conduce a un mejor aprovechamiento del gran potencial nutricional de las semilla.

CONSIDERACIONES TEORICAS

Características generales del ácido fítico

El ácido fítico es el principal antinutriente presente en los cereales. Se sabe que se halla presente a altas concentraciones en granos de cereales y en legumbres (1-2 %), y puede inhibir de forma significativa la absorción de minerales mediante la formación de complejos insolubles con minerales de interés nutricional como el hierro no hemo, el calcio y el zinc (Hurrell et al., 1992), impidiendo su absorción y alterándose de este modo la homeostasis mineral. Asociado a esto pueden aparecer problemas en la salud tan importantes como alteraciones en el crecimiento de los niños, anemia, disfunciones reproductivas, cáncer, enfermedades cardíacas o alteraciones inmunológicas. Los seis grupos fosfato en la molécula de ácido fítico le otorgan una elevada capacidad quelante de cationes divalentes.

Influencia del procesado industrial sobre el ácido fítico.

Siendo la infancia un periodo de la vida en el que existe elevado riesgo de padecer deficiencias nutricionales, fundamentalmente de minerales como el hierro o el zinc; adquiere una gran importancia el suministro de alimentos que proporcionen las cantidades adecuadas de todos los nutrientes necesarios (Hurrell, 1992). Por ello, es necesario el tratamiento tecnológico de los alimentos infantiles a fin de enriquecer los mismos con determinados nutrientes, añadir compuestos que favorezcan la absorción mineral o bien aplicar un determinado procesado tecnológico sobre los alimentos infantiles para eliminar determinadas sustancias antinutrientes presentes naturalmente en las materias primas utilizadas, fundamentalmente cereales, y que ocasionan una disminución en la absorción mineral.

Interacción con proteínas y almidón

El ácido fítico interfiere en la digestibilidad y disponibilidad de las proteínas y su efecto depende de las características del complejo ácido fítico-proteína formado; el cuál varía en función del tipo de proteína, del pH y de la temperatura. Existen discordancias en los resultados obtenidos sobre la interacción entre el ácido fítico y las proteínas, éstas podrían estar debidas a la distinta naturaleza de las proteínas presentes en los alimentos (Carnovale et al., 1988), mientras que otros autores han atribuido este efecto negativo a la capacidad que presenta el ácido fítico de inhibir enzimas digestivas con actividad proteolítica (Deshpande y Damodaran, 1989). Esta actividad parece estar debida a las condiciones de pH ácido que necesita la pepsina para actuar, se forman uniones electrostáticas entre el ácido fítico y la pepsina, habiéndose observado igualmente que a pH 3 el ácido fítico forma complejos insolubles con la tripsina (Martínez et al., 2002).

MATERIALES Y METODOS

Materiales

- Tubos falcón
- Papel filtro
- Vasos de precipitación
- Microtubos
- Microcubetas
- Micro pipetas
- Membrana de diálisis

Equipos

- Congelador
- Espectrofotómetro.
- Centrifuga
- Baño maría con agitación
- Microcentrifuga
- Vórtex
- Balanza analítica.

- Pipetas
- Espectrofotómetro de absorción atómica
- pHmetro

Reactivos

- Reactivo wade
- Ácido Fítico: (Sigma – Aldrich; B8631)
- Tampón de acetato de
- Suspensión de fitasa
- Buffer de
- Suspensión de la fosfatasa alcalina
- Solución estándar de fósforo
- Suspensión de caseína
- a-amilasa al 3%
- Pepsina
- Pancreatina
- Extracto de Bilis
- Buffer PIPES
- Ácido clorhídrico: HCl 0.1N, HCl 6N
- Bicarbonato de sodio, NaHCO₃ 0.1N
- Hidróxido de sodio, NaOH 6N
- Ácido nítrico
- Ácido perclórico

Diseño experimental

Se aplicó un diseño completamente al azar en arreglo factorial (AxB) para el caso de la quinua, chocho, amaranto y sangorache, con tres repeticiones por tratamiento.

Metodos

1. Método de campo.

El chocho, amaranto, quinua y sangorache (amaranto negro) fueron cultivados en la granja del Colegio Simón Rodríguez, Provincia de Cotopaxí.

Una vez cosechados se transportaron al laboratorio, se sometieron a secado para disminuir la humedad a un nivel del 12%. Los granos secos fueron molidos a un tamaño de partícula de 20 mesh.

2. Acondicionamiento de la muestras.

En los granos andinos se determinó el contenido de humedad para expresar los resultados en base seca. Todas las muestras fueron molidas y tamizadas por una malla de 0.5 mm de diámetro con el fin de obtener harina fina, la que se almacenó en refrigeración hasta el momento del análisis.

3. Cuantificación de fifatos totales por colorimetría

Se pesa 0.5 g de cada una de las muestras en tubos de Falcón. Se agrega 20 ml de HCl 0.65 M y se coloca durante dos horas en un agitador transcurridas las dos horas de agitación de las muestras se centrifugan a 6000 rpm durante un período de 15 min. Después de centrifugadas las muestras, éstas se pasan por un equipo de filtración al vacío. Los extractos filtrados de las muestras se recolectan en tubos falcón de 50ml y luego son almacenados a una temperatura de -20° C

Purificación de fifatos

Para la realización de la purificación de las muestras, los extractos filtrados se descongelan y se toman alícuotas de 3 ml las cuales se colocan en tubos falcón y se diluye a 15 ml de agua 18 MΩ. Seguido se acoplan los cartuchos de intercambio iónico AG 1-x8 (Biorad), se acondicionan los cartuchos con 5 ml de solución de HCl 0.2 M posteriormente se cargan los extractos de las muestras en los cartuchos de intercambio iónico a un flujo de 300 µL/min. Después de cargada la columna se lava con 10 ml de solución de NaCl 0.07 M para eliminar los fosfatos y de inositol fosfato poco fosforilados. Los fifatos purificados se eluyen con 10 ml de NaCl y se recolectan en tubos falcón de 15 ml.

Cuantificación de fifatos

Para realizar la cuantificación de fifatos a las muestras, se realiza el siguiente procedimiento:

Se prepara el reactivo de wade modificado (RWn), en el cual contiene 0.030 % FeCl₃ * 6K₂O y 0.30% de ácido 5-sulfosalicílico dihidratado. Luego se toman 3 ml de extracto de fifatos purificados y se adiciona 1 ml de reactivo de wade, se agita en un Vortex y se centrifuga a 3000rpm en un equipo y por último se lee la absorbancia de la mezcla. (Reactivo de wade con mayor absorbancia de 500 nm)

4. Digestibilidad in vitro de proteína

Para la medición de la digestibilidad de la proteína se debe hacer un análisis previo para determinar el contenido de nitrógeno de las muestras a analizar. Seguido de este análisis se toman las muestras por triplicado y se determina su digestibilidad de la siguiente manera:

Se pesa en tubos Falcon, una cantidad de muestra que contenga 10 mg de Nitrógeno y se disuelve en 2.5 ml de agua 18 MΩ, luego se procede a adicionar 2.5 ml de NaOH al 0.2 N y se hace una incubación de la solución por un periodo de 30 minutos en un baño de agua con una temperatura de 37 °C después de transcurrido los 30 minutos, se agrega 5.0 ml de HCl 0.075N a la solución y se ajusta el pH a 8.0, se mantiene la solución con una temperatura de 37 °C. Una vez ajustado el pH y mantenida la temperatura 37 °C, se agregan 2 ml de la solución multienzimática a cada una de las muestras, en donde se presenta un rápido descenso del pH, el cual es causado por la liberación de aminoácidos con grupos carboxílicos presentes en la proteína debido a la acción de enzimas proteolíticas. El descenso del pH se registra automáticamente después de un periodo de 10 minutos usando un medidor de pH y finalmente se calcula el valor de digestibilidad a este tiempo (10 minutos).

5. Determinación de la biodisponibilidad in vitro de minerales

Se pesa 5 g de muestra en vasos de 100 ml se agregan 50 ml de agua 18mΩ. Cada muestra se incuba con 5 ml de la solución de α-amilasa al 3% en un baño maría durante 30 minutos a 37 °C con agitación se ajusta el pH a 2.8 con HCl 6N y se agregan 1.6 ml de la solución de pepsina y se incuba por un periodo de 2 horas a 37 °C con agitación.

Cada muestra se coloca en las bolsas de diálisis las mismas que se ubican en vasos de precipitación que contienen 50 ml de buffer PIPES, Se colocan nuevamente las muestras en un baño maría a una temperatura de 37 °C durante 1 hora. Transcurrido este tiempo se adicionan cuidadosamente 12.5 ml de la solución de pancreatina + extracto de bilis dentro de la bolsa de diálisis, siguiendo con la incubación durante 2 horas a 37 °C.

Al finalizar el periodo de incubación, las muestras se retiran del baño maría. Las bolsas de diálisis son removidas de los vasos y llevadas a sequedad, entonces el líquido contenido en la bolsa de diálisis (retenido) y el líquido contenido en el vaso (dializado) son debidamente separados y codificados.

Cuantificación del mineral biodisponible

Una vez finalizado el periodo de digestión in vitro el mineral se determina por espectroscopia de absorción atómica tanto del retenido como del dializado y se procede de la siguiente manera:

La bolsa que contiene el líquido del retenido es llevada a sequedad, una vez seca se mineraliza con una mezcla de HNO₃ y HClO₄ (10:10), de modo que se elimine la parte orgánica, esto se observa por la aparición de humos blancos y por decoloración del líquido de la muestra, una vez terminada la mineralización se lleva a un volumen de 100 ml para su posterior lectura.

El dializado (20 ml) de igual manera se mineraliza con HNO₃ y HClO₄ (10:10) hasta sequedad, luego se reconstituye con agua, tomando el mismo volumen inicial del dializado (20 ml), para posterior cuantificación.

6. Determinación de lisina disponible

Se pesa 100 mg de la muestra en un matraz con tapa (la muestra molida y pesada a través de una criba de mm (malla No. 20) adicionamos 10 ml de NaHCO₃ al 4% (pH = 8.5) agitamos por 10 minutos en un baño a 40°C y a 80 r.p.m. posteriormente se agrega 10 ml de ácido trinitrobencensulfónico al 0.1% y se agita durante dos horas a 40°C y 80 r.p.m. se agrega 30 ml de HCl concentrado. Tapar y poner en el autoclave durante una hora, se deja enfriar y se adiciona 50 ml de agua destilada y se filtra. Tomar una alícuota de 10 ml y extraerla 2 veces con 10 ml de éter etílico cada vez. Eliminar el éter residual poniendo la solución ya extraída en un baño de vapor durante 10 minutos. Leer la absorbancia a 346 nm ajustando a cero con el blanco.

RESULTADOS Y DISCUSION

Determinación de la variabilidad del contenido de ácido fítico en líneas avanzadas y/o variedades de quinua, chocho, amaranto y sangorache.

De las cuatro especies de granos andinos consideradas en este estudio el amaranto y el sangorache presentaron el mayor contenido (1.25%) mientras que el chocho registró el menor contenido (1.10%) La Figura 1. Las diferencias en el contenido de ácido fítico se deben principalmente al genotipo, ya que este antinutricional en cereales y leguminosas constituye aproximadamente entre 1 % y 2% del peso de la semilla, incluso puede alcanzar cantidades de 3% a 6%. Al respecto Zhou JR, (1995) atribuye esta variabilidad a la localización; en las leguminosas este ácido está distribuido de manera uniforme en el cotiledón y asociado a estructuras proteicas, mientras que en los cereales y otros granos, el fitato se concentra en la aleurona, y en menor proporción en el germen.

Este significa que durante la molienda, los niveles del antinutriente suelen disminuir, al igual que los contenidos en fibra, vitaminas y minerales (McKevith, 2004). El nivel de fitatos varía no sólo entre especies vegetales como lo cita Ravindran et al; (1995) sino dentro de cada especie como es el caso de los granos andinos en estudio, también dependiendo del tipo de suelo, variedad cultivada, estado de maduración, condiciones de cultivo, climatología, etc.



Figura 1.- Contenido de ácido fítico en varios genotipos de granos andinos. Elaborado por: Belén Riera, 2011

Los niveles encontrados en estudio (0.94%-1.33%) son suficientes para interferir con la biodisponibilidad de ciertos minerales, el fósforo contenido en los fitatos es muy poco disponible ya que el organismo carece de la enzima precisa, al menos en cantidad suficiente, para romper y separar el fósforo de la molécula de inositol; es por esta razón que cada tipo de alimento puede contener valores similares o totalmente diferentes de fitatos dentro de su estructura.

Efecto de algunos procesos sobre el contenido de ácido fítico, en líneas avanzadas y/o variedades de quinua, chocho, amaranto y sangorache.

Se estudio el efecto del procesamiento tecnológico, a través de la cocción, tostado y fritura de cada especie en estudio.

Con una certeza del 95% se puede afirmar que el proceso de cocción es el más efectivo para lograr disminuir el ácido fítico, por lo que se ubicó en el rango estadístico "a", mientras que con los procesos de tostado y fritura se obtiene un efecto contrario, hallándose un valor de 1.52% en el caso de la línea ECU-0069 sometida a fritura, lo que representa un incremento del 27%, con respecto al grano crudo.

Figura 2.- Efecto del proceso aplicado en el contenido de ácido fítico de varios granos andinos.

Elaborado por: Belén Riera, 2011

En la Figura 2, se muestra que de todas las especies en estudio, la que experimenta mayor disminución de ácido fítico es el chocho, mientras que el sangorache presentó disminución insignificante. Contrariamente los procesos de tostado y la fritura de amaranto, quinua, sangorache y chocho mostraron un marcado incremento en el contenido de ácido fítico, con respecto al valor encontrado en los granos crudos.

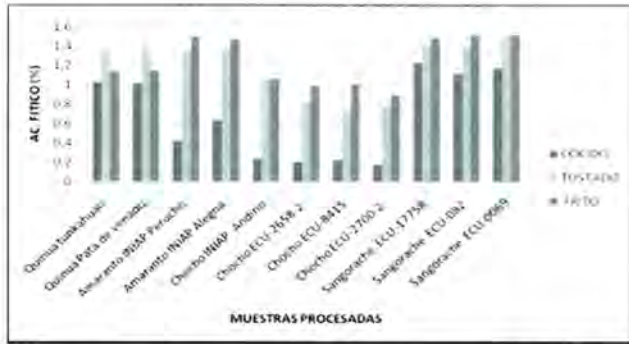


Figura 2.- Efecto del proceso aplicado en el contenido de ácido fítico de varios granos andinos.
Elaborado por: Belén Riera, 2011

La Figura 3, ilustra la efectividad del proceso de cocción en la disminución de ácido fítico para todos los granos en estudio. Lo cual podría atribuirse a los cambios fisicoquímicos que ayudan a degradar el contenido de ácido fítico, que experimenta la cocción de los granos por la transferencia de calor, a este comportamiento hace referencia Vidal et al; (1994) donde cita que el calentamiento en húmedo tiende primero a solubilizar y después a destruir ciertos componentes, esto se basa fundamentalmente en la activación de las fitasas endógenas de las semillas, que producen una degradación del contenido en ácido fítico, por tal motivo comprobamos que es una molécula termolábil y por ende el tratamiento reduce este problema, al producirse una desfosforilación del ácido fítico.

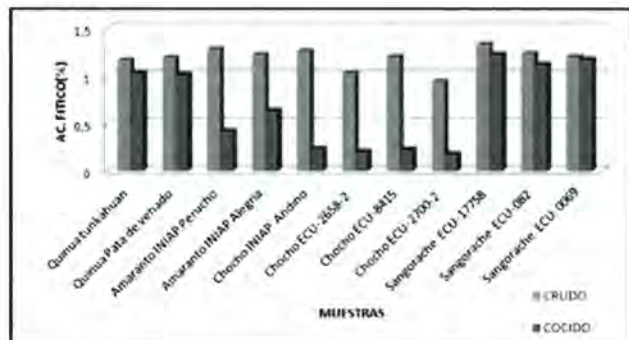


Figura 3.- Efecto de la cocción en el contenido de ácido fítico de varios granos andinos.
Elaborado por: Belén Riera, 2011

La cocción realizada tuvo buenos resultados demostrando que durante el procesamiento de las semillas, se produce la hidrólisis enzimática del ácido fítico debido a la activación de las fitasas endógenas, esta conducta es similar a los descritos por Vidal et al; (1994) los cuales estudiaron al efecto del procesamiento sobre algunas sustancias antinutritivas de las leguminosas y concluyeron que la cocción produce una disminución de la actividad inhibitoria de la tripsina, una reducción del ácido fítico y un aumento de los taninos y catequinas.

Determinación de la biodisponibilidad de minerales en granos andinos en estado crudo y procesado (cocción).

El estudio de la biodisponibilidad de minerales se realizó con granos crudos y cocidos ya que en este proceso disminuyó sustancialmente el contenido de ácido fítico. La biodisponibilidad de los minerales se calculó a partir del porcentaje dializado tras la digestión in vitro de los granos cocidos y molidos. Los resultados revelaron que la biodisponibilidad del fósforo, hierro, y zinc son insignificantes con niveles de absorción entre 0% al 0.9%.

Estos resultados hacen suponer que el ácido fítico no es el único antinutricional que compromete la disponibilidad de dichos minerales en los granos andinos en estudio.

La biodisponibilidad del calcio también fue insignificante para la mayoría de los granos en estudio excepto la quinua que mostró una biodisponibilidad de 12.64%.

Para los demás elementos se determinó adecuados niveles de biodisponibilidad; así para el potasio 34.79%, magnesio 41.19%, sodio 15.48%, cobre 51% y manganeso 16.13% en todas las líneas y/o variedades.

Los resultados experimentales concuerdan con los obtenidos por Lestienne et al., (2005) para la harina de mijo, observando que una disminución del contenido en fitato no se tradujo en un incremento en la solubilidad del hierro, lo que evidencia el efecto inhibitorio de otros componentes de la fibra en la solubilidad

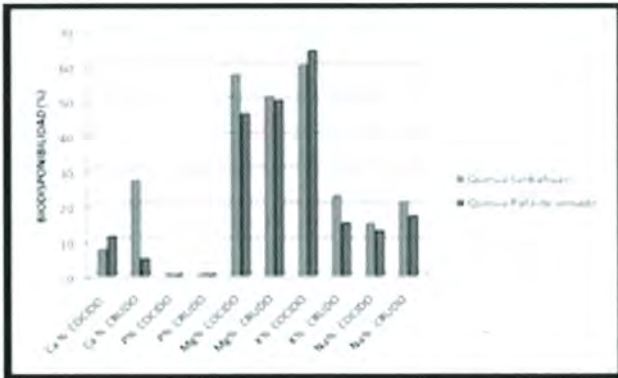


Figura 4.- Biodisponibilidad de macroelementos en dos variedades de quinua cruda y cocida.
Elaborado por: Belén Riera, 2011

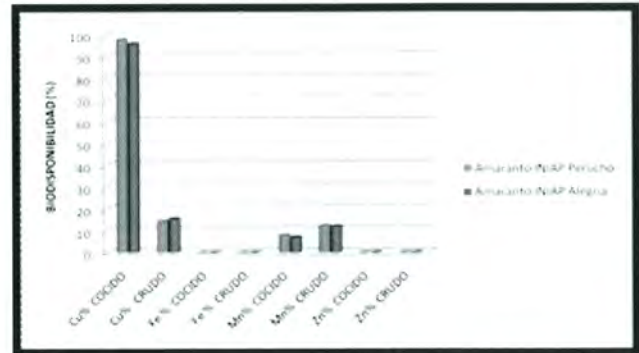


Figura 1.- Biodisponibilidad de microelementos en dos variedades de amaranto
Elaborado por: Belén Riera, 2011

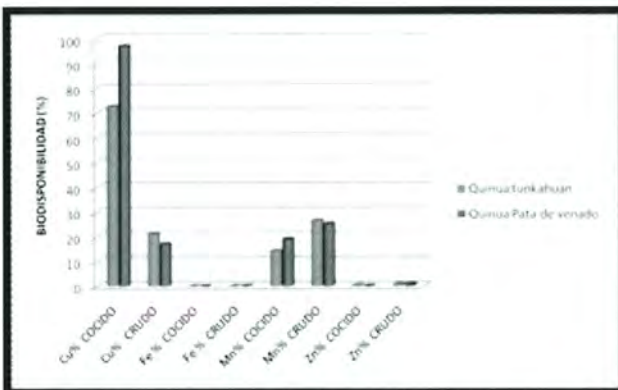


Figura 5.- Biodisponibilidad de microelementos en variedades de quinua.
Elaborado por: Belén Riera, 2011

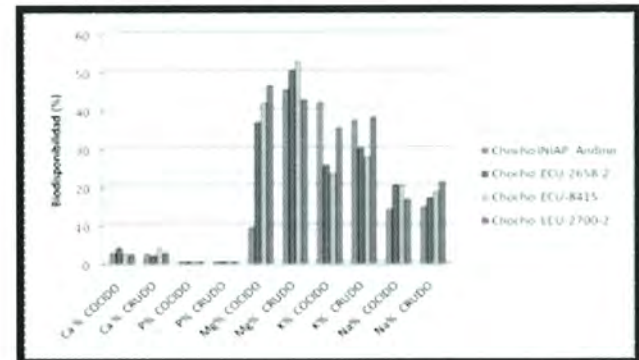


Figura 2.- Biodisponibilidad de macroelementos en variedades de chocho crudo y cocido.
Elaborado por: Belén Riera, 2011

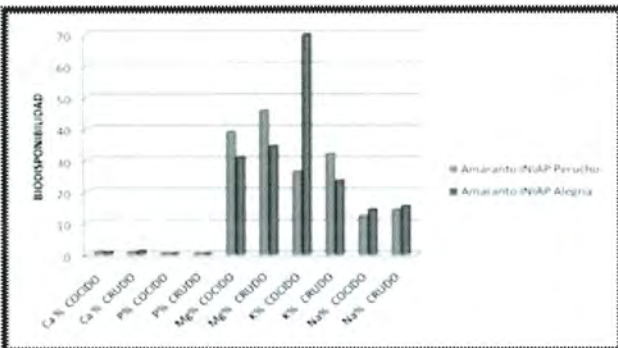


Figura 6.- Biodisponibilidad de macroelementos en dos variedades de amaranto
Elaborado por: Belén Riera, 2011

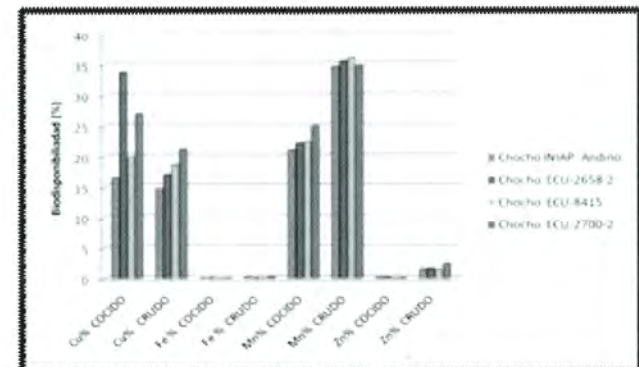


Figura 9.- Biodisponibilidad de microelementos en variedades de chocho crudo y cocido
Elaborado por: Belén Riera, 2011

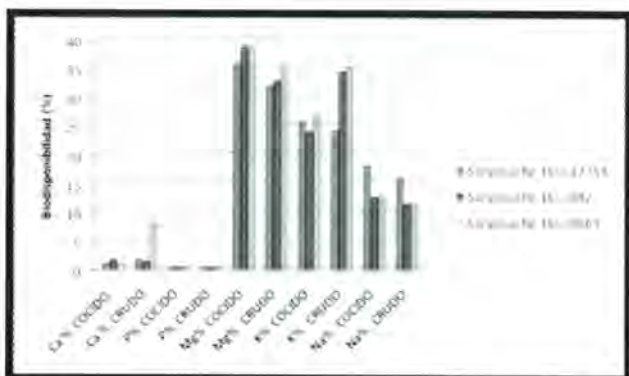


Figura 3.- Biodisponibilidad de macroelementos en líneas de sangorache
Elaborado por: Belén Riera, 2011

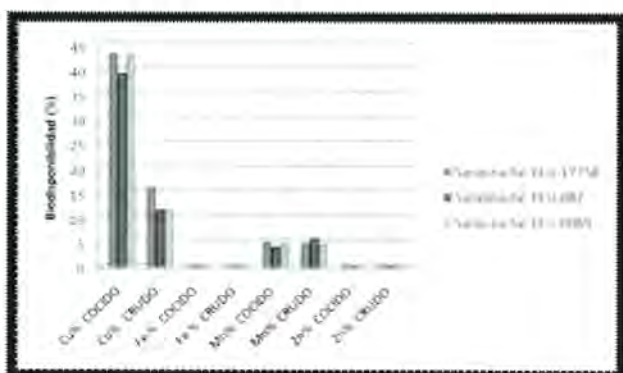


Figura 4.- Biodisponibilidad de microelementos en líneas de sangorache
Elaborado por: Belén Riera, 2011

A pesar de que la cocción húmeda del grano provoca disminución del ácido fítico; sin embargo no contribuye a mejorar la biodisponibilidad de la mayoría de los microelementos, al respecto Sandberg et al., (1989) cita que a temperaturas superiores a los 75 °C destruyen la estructura de las enzimas contenidas en el grano y reducen drásticamente su actividad fitásica

Determinación de la digestibilidad proteica, en líneas o/ variedades de quinua, chocho, amaranto y sangorache procesado (cocción) y no procesado (crudo).

El cocimiento contribuyó a mejorar la digestibilidad de la proteína en todas las especies en estudio y en mayor proporción en el caso del chocho, variedad Andino y la línea ECU-8415, los porcentajes de digestibilidad proteica son muy similares entre las muestras de amaranto, sangorache, quinua, y chocho evidenciando que la especie no tuvo efecto en la digestibilidad proteica in vitro y la diferencia puede atribuirse a varios factores que cita

Nielse, (1991) tales como la estructura proteica, la presencia de otros componentes (minerales, hemicelulosa), la formación de complejos de proteína y almidón y de enlaces entrecruzados entre proteínas. Al respecto Balandrán-Quintana et al; (1998) menciona que los constituyentes parietales de los granos andinos como el ácido fítico son los principales factores de variación de la digestibilidad de la proteína, como una consecuencia del boqueo que ejercen sobre la proteína alimenticia.

Tabla 1.- Digestibilidad proteica en muestras Crudas y procesadas

| DESCRIPCIÓN | CRUDA % | COCIDA% |
|------------------------|---------|---------|
| Quinua Tunkahuan | 78,87 | 81,53 |
| Quinua Pata de venado | 79,96 | 81,95 |
| Amaranto INIAP Perucho | 78,57 | 82,61 |
| Amaranto INIAP Alegría | 77,91 | 84,12 |
| Chocho INIAP Andino | 83,58 | 90,76 |
| Chocho ECU-2658-2 | 84,54 | 88,41 |
| Chocho ECU-8415 | 82,19 | 89,25 |
| Chocho ECU-2700-2 | 83,46 | 89,55 |
| Sangorache ECU-17758 | 78,51 | 81,89 |
| Sangorache ECU-082 | 78,15 | 81,35 |
| Sangorache ECU-0069 | 77,30 | 82,43 |

Elaborado por: Belén Riera, 2011

Las líneas y/o variedades que presentan mayor digestibilidad proteica son las de chocho alcanzando valores del 90%; en el caso del amaranto, sangorache y quinua sus valores de digestibilidad oscilan entre el 82 % y 85% el valor menor registrado fue para el sangorache ECU-0069 con 77,3% crudo (Tabla 1). El aumento de la digestibilidad proteica es una de las ventajas que se atribuyen al proceso. Señala Abd El Hady y Habibi (2003). Sin embargo puede ocurrir decremento en la digestibilidad debido a un tratamiento térmico insuficiente o a un exceso de calor aplicado (Parsons et al., 1992). Otros investigadores atribuyen el efecto negativo de los fitatos en el metabolismo proteico más que a la formación de un complejo fitato-proteína, a la capacidad de inhibir enzimas digestivas. Según Nair et al, (1991) es conocido que el ácido fítico inhibe la α amilasa de diferentes orígenes, además la tripsina, tirosinasa y pepsina El fitato inhibe enzimas como la pepsina, ya que al pH ácido al cual ésta es activa se promueven fuertes uniones electrostáticas entre ambos; lo mismo ocurre con aquellas enzimas que tienen un pH óptimo ácido.



Figura 12.- Digestibilidad proteica en muestras Crudas (no procesada) y (procesadas) de varios granos andinos
Elaborado por: Belén Riera, 2011

Determinación del contenido de lisina disponible en líneas y/o variedades de quinua, chocho, amaranto y sangorache procesado (cocción) y no procesado (crudo).

El contenido de lisina disponible de las especies en estudio se evidencia en la Tabla 129 notándose que el proceso de cocción ayuda a incrementar el contenido de lisina disponible entre el 1% a 2%, según Hurell, (1992) se ha reportado que la aplicación de calor a las proteínas puede inducir cambios en su molécula que tienen poco efecto en su digestibilidad pero deja a los aminoácidos absorbidos menos disponibles. Después de la digestión, los aminoácidos alterados por el calor pueden ser metabolizados en las paredes intestinales y por consiguiente no absorberse en la sangre portal.

Tabla 2.- Lisina disponible granos andinos (chocho, amaranto, sangorache, quinua)

| DESCRIPCIÓN | Lisina (gr/100gr de proteína) | | Lisina disp. (gr/100gr de proteína) | |
|------------------------|-------------------------------|--------|-------------------------------------|--------|
| | CRUDA | COCIDA | CRUDA | COCIDA |
| Quinoa Tunkahuan | 4,434 | 4,750 | 0,584 | 0,611 |
| Quinoa Pata de venado | 6,530 | 7,024 | 0,776 | 0,803 |
| Amaranto INIAP Perucho | 4,119 | 4,370 | 0,636 | 0,677 |
| Amaranto INIAP Alegria | 4,196 | 4,460 | 0,623 | 0,681 |
| Chocho INIAP Andino | 3,095 | 2,620 | 1,087 | 1,189 |
| Chocho ECU-2658-2 | 3,071 | 2,600 | 1,091 | 1,149 |
| Chocho ECU-8415 | 3,048 | 2,580 | 1,052 | 1,151 |
| Chocho ECU-2700-2 | 2,833 | 2,400 | 0,993 | 1,075 |
| Sangorache ECU-17758 | 3,933 | 4,022 | 0,471 | 0,500 |
| Sangorache ECU-082 | 3,891 | 3,978 | 0,477 | 0,504 |
| Sangorache ECU-0069 | 3,827 | 3,912 | 0,472 | 0,511 |

Elaborado por: Belén Riera, 2011

El chocho es la especie con el mayor contenido de lisina disponible, mientras que el sangorache presenta el menor contenido.

En la Figura 18 se puede notar claramente que el proceso de cocción influye directamente sobre el contenido de lisina disponible. De las especies estudiadas el chocho presentó mayor contenido de lisina disponible (1.19 gr/100 gr proteína), lo cual se correlaciona con el mayor contenido de proteína digerible tanto en el grano crudo como en el cocido, al respecto Moughan, (2005) menciona que los valores de lisina disponible puede variar al ser sometidos a los alimentos a procesos o almacenados por periodos largos, la lisina puede perder su valor nutricional, principalmente por efecto de la reacción de Maillard, la cual involucra la interacción de un azúcar reductor con el grupo e-amino de la lisina. Esta lisina que reaccionó no es susceptible al ataque enzimático quedando nutricionalmente no disponible

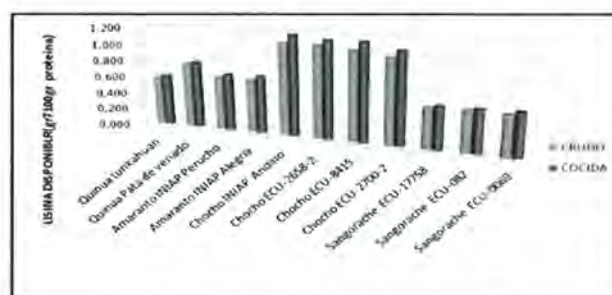


Figura 13.- Lisina disponible en genotipos de varios granos andinos.
Elaborado por: Belén Riera, 2011

El sangorache presentó menor contenido de lisina disponible (0.47 gr/100 gr proteína). Sin embargo la presencia de este aminoácido en la proteína es notable; acorde a lo por la OMS/FAO de 0.55g/100gr proteína)

La absorción de los nutrientes depende tanto de factores intrínsecos al individuo como de externos. Dentro de los primeros influyen el sexo, la edad, la etapa de desarrollo, características y anomalías genéticas, la flora intestinal, el estado fisiológico y nutricional (Bacon, et al., 2002)

CONCLUSIONES

Los niveles de ácido fólico presente en los granos andinos varió entre (0.9 al 1.25%). De las cuatro especies consideradas en este estudio el amaranto y el sangorache presentaron el mayor contenido (1.25%) mientras que el chocho registró el menor contenido, sobre todo en las líneas ECU-2700-2 (0.9%) Y ECU-2658-2 (1%)



La fritura y el tostado aplicado a las líneas y/o variedades en estudio mostraron un notable incremento en el contenido de ácido fítico, con respecto al valor encontrado en los granos nativos; se debe a que la aplicación de calor excesivo destruye por completo a las enzimas endógenas que ayudan a degradar el ácido fítico.

La cocción húmeda de los granos, reduce el contenido inicial de ácido fítico. No obstante, este proceso es insuficiente para alcanzar un cociente fitato/mineral que garantice una adecuada biodisponibilidad.

Se determinó que el hierro, zinc y fósforo son afectados drásticamente por la presencia del ácido fítico tanto en el grano en estado crudo como en el sometido a cocción, la biodisponibilidad fue relativamente inferior de estos elementos a los requerimientos del organismo; siendo los elementos menos asimilables de todos los minerales estudiados con niveles que no superan el 1% en las especies estudiadas.

La biodisponibilidad de los minerales fue lo siguiente: sodio (15.48%), manganeso (16.13%), potasio (34.79%), magnesio (41.19%), cobre (51%); las mismas que se enmarcan en niveles normales y esperados para los vegetales en general; no se vio afectada por la presencia del ácido fítico.

La digestibilidad in vitro de la proteína mejora cuando los granos son sometidos a un tratamiento térmico, lo cual implica que las proteínas pueden ser mayormente aprovechadas por el organismo. De todas las especies en estudio; las líneas y/o variedades que presentaron mayor digestibilidad proteica son las de chocho alcanzando valores del 90%; en el caso del amaranto, sangorache y quinua sus valores de digestibilidad oscilan entre el 82 % y 85%, el valor menor registrado fue para el sangorache ECU-0069 con 77,3% en estado crudo.

Los niveles de lisina disponible fueron más altos para el chocho con 1.18 g/100 g proteína, revelando que INIAP Andino-450 presentó mayor contenido (1.18 gr/100 gr proteína), lo cual se correlaciona con el contenido de proteína digerible tanto en el grano crudo como en el cocido. El sangorache presentó el menor contenido de lisina disponible con 0.47 gr/100 gr proteína.

AGRADECIMIENTOS

Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica.

Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigación Agropecuarias INIAP, Departamento de Nutrición y Calidad y al Programa Nacional de Granos Andinos.

REFERENCIAS

- Anderson RJ. 1914. A contribution to the chemistry of phytin. s.l. : J. Biol. Chem, 1914. págs. 171- 190. Vol. 17.
- Augspurger NR., Baker DH. 2004. Phytase improves diet ary calcium utilization in chicks, and oyster shell, carbonate, citrate and citrate-malate forms of calcium are 287 equally bioavailable. s.l. : J. Nutr, 2004. págs. 293- 301. Vol. 24. 4.
- Barberá R., Farré R. 1992. Biodisponibilidad de los elementos traza. s.l. : Revista española de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 1992. págs. 381-399. Vol. 34. 4.
- Berseth CL., Van Aerde JE., Gross S., Stolz Sl., Harris CL., Hansen JW. 2004. Growth, efficacy and safety of feeding an ironfortified human milk fortifie. s.l. : Pediatrics, 2004. págs. 699-706. Vol. 114. 6.
- Blanco, O . 1982. Genetic variability of tarwi (Lupinus mutabilis Sweet). En Agricultural and Nutritional Aspects of Lupines . [ed.] R. Gross y E.S. Bunting. 1982. págs. 33-49.
- Bohn T, Davidsson L, Walczyk T, Hurrell RF. 2004. Phytic acid added to white-wheat bread inhibits fractional apparent magnesium absorption in humans. s.l. : J Clin Nut, 2004. págs. 418-23. Vol. 3.
- Bosscher D., Lu Z., Van Cauwenbergh R, Van Caillie-Bertrand M, Robberecht H, Deelstra H. 2001. A method for in vitro determination of calcium, iron and zinc availability from first-age infant formula and human milk. s.l. : International Journal of Food Scienc, 2001. págs. 173- 182. Vol. 52.
- Carnovale E, Lugaro E, Lombardi-Boccia G. 1988. Phytic acid in faba bean and pea: effect on protein availability. s.l. : Cereal Chem, 1988. págs. 114-17. Vol. 65.

- Couzy F., Mansourian R., Labate A., Guinchard S., Montagne DH., Dirren H. 1998. Effect of dietary phytic acid on zinc absorption in the healthy elderly, as assessed by serum concentration curve test. s.l. : British Journal of Nutrition, 1998. págs. 177-182. Vol. 80. 2.
- Chen YC., Yiang CI., Lin RS., Pu YS., Lai MK. 2005. Diet vegetarian food and prostate carcinoma among men in Taiwan. s.l. : J. Cancer, 2005. págs. 1057-61. Vol. 9.
- Cherian M. 1980. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Phytic acid interactions in foods systems. 1980. págs. 297-329. Vol. 13.
- Davies, N. T. . 1979. Antinutrients factors affecting mineral utilization. . s.l. : Proceedings of the Nutrition Society, 1979. pág. 121. Vol. 38.
- Deshpande SS, Damodaran S. 1989. Effect of phytate on solubility, activity and conformation of trypsin and chymotrypsin. s.l. : J Food Sci, 1989. págs. 695-99. Vol. 54.
- Egli I.M. 2001. Traditional food processing methods to increase mineral bioavailability from cereal and legume based weaning foods. Tesis doctoral. Swiss Federal Institute of Technology. Zurich (Suiza) : s.n., 2001.

TUTOR

.....
Ing. Juan Ramos

“UTILIZACIÓN DE LOS LODOS GENERADOS EN EL PROCESO DE POTABILIZACIÓN DEL AGUA DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO “CASIGANA”, COMO ADITIVO PARA SUELOS DE CULTIVO”

Fátima Elizabeth Ruiz Mora y Roman Rodríguez, PhD

Universidad Técnica de Ambato

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

Carrera de Ingeniería Bioquímica

Av. Los Shyris. Campus Huachi, Ambato-Ecuador Casilla 18-01-334.

email: faty14@gmail.com

RESUMEN

El proceso de potabilización de agua de la planta de tratamiento “Casigana”, de la Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Ambato (EMAPA), genera un total de 196 ml de lodos residuales por cada litro de agua tratada, provenientes del proceso de coagulación-floculación, sedimentación y el retrolavado de los filtros, los mismos que son enviados a los cauces del río Ambato, afectando al medioambiente.

Inicialmente se efectuaron análisis químicos de los lodos residuales y del suelo donde se realizó la experimentación.

Con el objeto de determinar la aptitud agronómica de los lodos residuales, se diseñó una experiencia de campo utilizando maíz (*Zea mays*) y brócoli (*Brassica oleracea*) como plantas control.

En una parcela de estudio (18 m²), se llevaron a cabo tres tratamientos de lodos con tres dosis diferentes, un cuarto y quinto tratamiento utilizando fertilizante químico (Nitrofoska azul) y un sexto como testigo (suelo virgen). Para cada tratamiento se hicieron 3 repeticiones. Las plantas fueron muestreadas por tres meses tomando en cada ocasión 10 plantas por repetición de las que se tomó los datos de altura, calibre, número de hojas, peso fresco y peso seco.

INTRODUCCIÓN

Cada día el medio ambiente sufre los efectos contaminantes y se hace imperiosa la necesidad de promover estrategias de control que ayuden a disminuir en gran medida los efectos colaterales de la contaminación. (Mujica, et.al, 2009)

A nivel mundial, la preocupación por el ambiente y el desarrollo sustentable han provocado la búsqueda de alternativas para reducir y aprovechar los lodos residuales. (Cerón, et.al, 2010)

Por ejemplo la creciente producción de lodos residuales procedentes de plantas potabilizadoras de agua plantea serios problemas para su almacenamiento, y sobre todo, para su eliminación. Por su elevado contenido en materia orgánica y elementos nutritivos, la aplicación de lodo puede mejorar las propiedades del suelo y también reemplazar parcialmente el uso de fertilizantes comerciales. El lodo, además de favorecer la asimilación de nutrientes, incrementa la retención de agua, permitiendo una mejor adaptación de las raíces y mejora la estructura del suelo. (Mañas, et.al, 2009) El objetivo que se planteó en este estudio fue determinar la viabilidad de utilizar los lodos residuales de una planta potabilizadora como aditivo en suelos de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

En una primera etapa de este estudio se efectuó la caracterización química y nutricional de los lodos residuales y del suelo virgen

En los terrenos de la planta de potabilización de agua del Casigana que no había sido utilizada para cultivo, se procedió al acondicionamiento del suelo para el posterior trasplante de las plantas de maíz y brócoli. En el terreno se marcaron 18 subparcelas de ensayo de 1 m², las mismas que estaban divididas para el maíz y brócoli con 3 tratamientos de lodo residual en función de 3 dosis de aplicación y 3 repeticiones por tratamiento, dejándose así mismo seis parcelas para los tratamientos en las cuales se incorporó fertilizante químico:

T1: 3 kg/m²

T2: 6 kg/m²

T3: 9 kg/m²

T4: 6 kg/m² + 50 % de fertilizante químico (*0.0076 kg de Nitrofoska azul)

T5: 100% fertilizante químico (*0.03275 kg de Nitrofoska azul) para el brócoli.

T6: Testigo (suelo virgen)

* Según cálculos utilizando la recomendación de fertilización facilitada por el INIAP.

El lodo se distribuyó manualmente en las parcelas en las dosis indicadas y posteriormente se procedió al pase de un rastrillo para su mejor incorporación al terreno.

Finalizada la extensión e incorporación al suelo de los lodos residuales, se trasplantaron un total de 270 plantas para el Brócoli y se sembraron 270 semillas de maíz, repartidas por igual entre las 18 subparcelas (12 plantas por repetición).

Para los tres muestreos realizados los días 15 de Febrero, 15 de Marzo y 15 de Abril del 2011, se tomaron 10 plantas por subparcela a las que se les midió la altura, el calibre, el peso fresco, peso seco y el número de hojas.

Para estimar diferencias significativas (Diseño de un solo factor aleatorizado), se procedió a realizar la comparación de las medias obtenidas a través del test de Duncan al 95% de nivel de confianza estableciéndose grupos homogéneos.

RESULTADOS

En cuanto a las características químicas y nutricionales de los lodos residuales como aditivo, mediante comparación de las cantidades de nutrientes requeridos para el óptimo desarrollo de las plantas de maíz y brócoli, los mismos poseen cantidades bajas de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg y S) y altas en micronutrientes (Zn, B, Cu, Fe y Mn), por lo que existe una limitación en cuanto al crecimiento de las plantas, por la falta de los primeros (Tabla 1.).

Tabla 1. Caracterización de los lodos residuales procedentes del proceso de potabilización del agua de la planta de tratamiento "Casigana"

| PARÁMETRO | VALOR |
|-----------------|-----------------|
| pH | 7,1 |
| NH ₄ | 31 ppm |
| P | 6.9 ppm |
| K | 0.08 meq/100 ml |
| Ca | 2.60 meq/100 ml |
| Mg | 1.80 meq/100 ml |
| S | 14 ppm |
| B | 0.60 ppm |
| Zn | 2.6 ppm |
| Cu | 3.1 ppm |
| Fe | 92.4 ppm |
| Mn | 33.6 ppm |

Respecto al suelo las cantidades de macronutrientes y micronutrientes no son las necesarias para el crecimiento de las plantas (Tabla 2.).

Tabla 2. Caracterización del suelo

| PARÁMETRO | VALOR |
|-----------------|-----------------|
| pH | 8,5 |
| NH ₄ | 5,6 ppm |
| P | 7,7 ppm |
| K | 1,30 meq/100 ml |
| Ca | 16,1 meq/100 ml |
| Mg | 6,10 meq/100 ml |
| S | 9 ppm |
| B | 0,6 ppm |
| Zn | 1,8 ppm |
| Cu | 4,8 ppm |
| Fe | 7,1 ppm |
| Mn | 1,9 ppm |

En el primer muestreo las plantas abonadas con lodos residuales, las adicionadas Fertilizante químico y el testigo tienen un crecimiento significativamente proporcional en lo referente a la Altura, Calibre y número de hojas para los dos tipos de plantas (Maíz y Brócoli). En el segundo y tercer muestreo destaca el tratamiento T4 (6 kg/m² + 50 % Fertilizante químico) en todos los parámetros para las plantas de maíz y brócoli (Fig. 1, 2, 3, 7, 8 y 9)

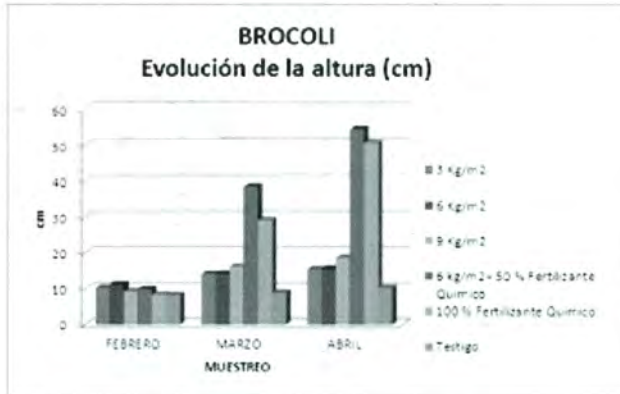


Fig. 1 Evaluación de la Altura - Brócoli

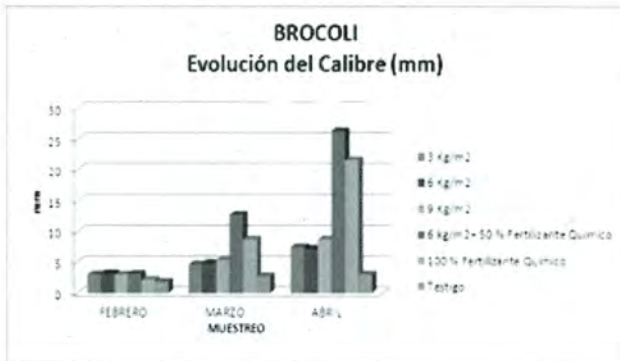


Fig. 2 Evaluación del Calibre - Brócoli

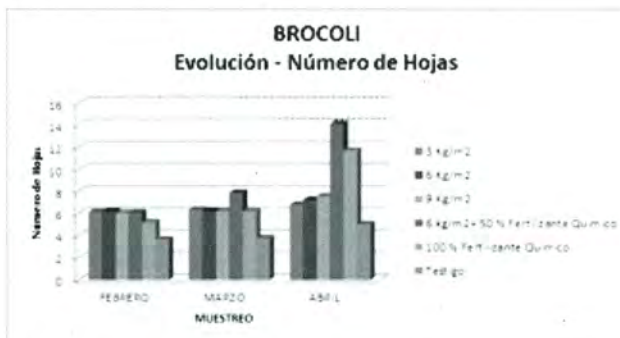


Fig. 3 Evaluación del Número de Hojas - Brócoli

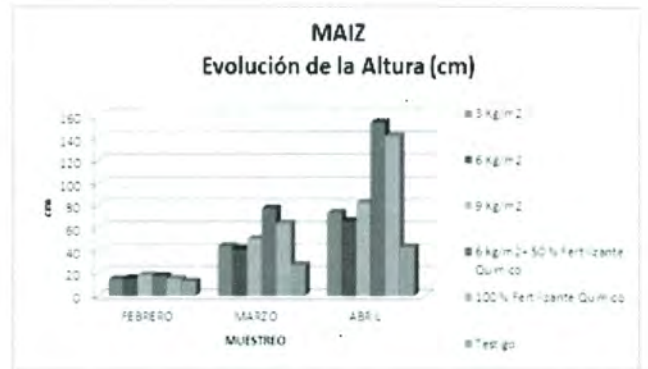


Fig. 7 Evaluación de la Altura - Maíz

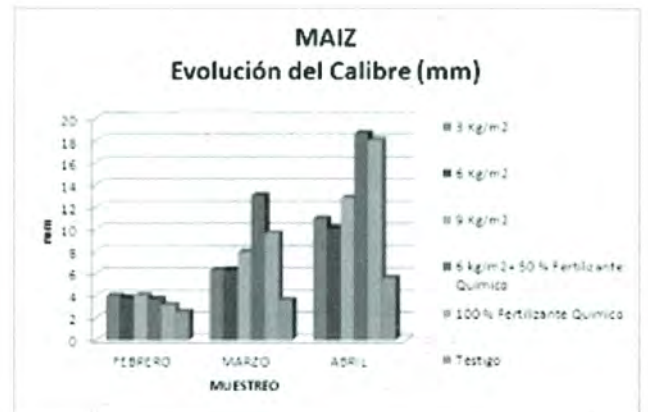


Fig. 8 Evaluación del Calibre - Maíz

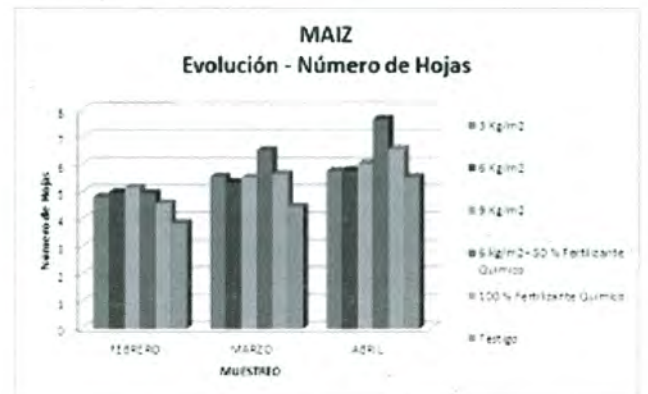


Fig. 9 Evaluación de la Altura - Maíz

Interesa destacar los resultados obtenidos en los pesos fresco y seco (Fig. 4, 5, 10 y 11), ya que esto se traduce posteriormente en un mayor o menor rendimiento de la cosecha. En los primeros momentos del cultivo no existen diferencias significativas entre los cultivos. A medida que la planta se va desarrollando empiezan a marcarse las diferencias. Así, se observa que las plantas de las parcelas testigo presentan un peso fresco y seco significativamente más bajo con respecto a las adicionadas lodos residuales y fertilizante químico. En el segundo y tercer muestreo destaca el tratamiento T4(6 kg/m² + 50 % Fertilizante químico), para maíz y brócoli.

De esta forma al terminar el muestreo se recogió un peso fresco final de cada uno de los tratamientos alcanzando diferencias más notables entre plantas con dosis de lodos residuales, las adicionadas fertilizante químico y plantas testigo, destacando el tratamiento T4(6 kg/m²+ 50 % Fertilizante Químico) para los dos tipos de plantas (Tabla. 3).

Tabla 3. Pesos Frescos finales (kg)

| Tratamientos | Brócoli | Maíz |
|---|----------|-----------|
| T1: 3 Kg/m ² | 0,065351 | 0,1514395 |
| T2: 6 Kg/m ² | 0,074406 | 0,146824 |
| T3: 9 Kg/m ² | 0,084345 | 0,238016 |
| T4: 6 kg/m ² + 50 % Fertilizante Químico | 1,750929 | 0,804453 |
| T5: 100 % Fertilizante Químico | 1,443211 | 0,700633 |
| T6: Testigo | 0,008953 | 0,0400652 |



Fig. 4 Evaluación del Peso fresco - Brócoli

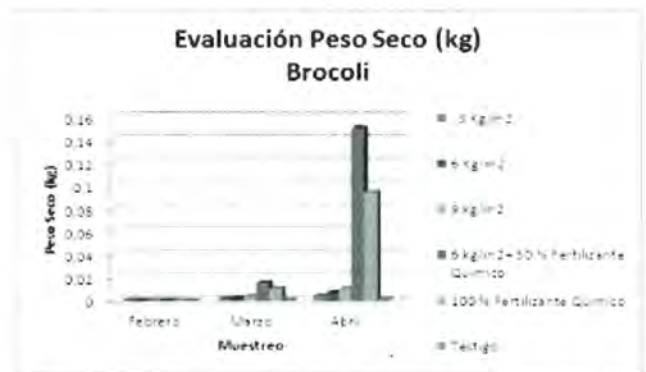


Fig. 5 Evaluación del peso seco – Brócoli



Fig. 10 Evaluación del Peso fresco - Maíz

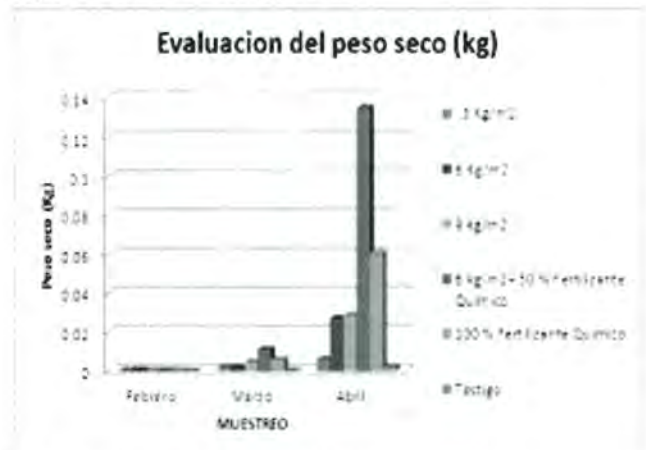


Fig. 11 Evaluación del Peso seco – Maíz

CONCLUSIONES

- Al comparar el efecto que produce la adición de los lodos residuales en el suelo, comparándolo con un suelo virgen y a uno abonado químicamente se obtiene:

- El mejor tratamiento en el maíz fue el T4 (6 kg/m² + 50% fertilizante químico) para todos los parámetros (altura, calibre y Numero de hojas, no encontrando así diferencias significativas en los tratamientos T1 (3 kg/m²), T2 (6 kg/m²) y T3 (9 kg/m²) de lodos residuales.

- En el Brócoli el mejor tratamiento fue el T4 (6 kg/m² + 50% fertilizante químico), seguido por el T5 (100 % Fertilizante químico) en todos los parámetros Altura, Calibre y Numero de Hojas y al comparar los tratamientos T1 (3 kg/m²), T2 (6 kg/m²), y T3 (9 kg/m²), se aprecia que no existe diferencias significativas en todos los parámetros; el tratamiento T6 (Testigo) fue el menor en todos los parámetros.

- Finalmente, podemos afirmar que el abonado en plantas de maíz y brócoli con lodos residuales procedentes de la potabilización del agua, respecto a testigos sometidos sin ningún aditivo, ayudan en el crecimiento de las plantas. De todos modos, resulta indiferente aplicar más de 3 kg/m² ya que se comprobó estadísticamente que con los tratamientos de 6 kg/m² y 9 kg/m² no existe diferencia significativa en el aumento final de peso fresco.

- Asimismo, la cantidad de aluminio en el tejido vegetal aumenta a medida que la dosis de fango aplicada es mayor, y al ser comparada con La Agencia de protección del medio ambiente de Estados Unidos de Norteamérica. (EPA) el cual recomienda un límite de 0.05 a 0.2 mg/L para aluminio en el agua potable, se concluye que el maíz con concentraciones de entre 0.206 ppm a 0.42 ppm de Al 3+ y el brócoli con 0.25 ppm a 0.77 ppm de Al 3+ no son aptos para el consumo humano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CERÓN Oswaldo, MILLÁN Sandra, ESPEJEL Fabricio, RODRÍGUEZ Arturo y RAMÍREZ Rosa María. 2010
Aplicación de lodos de plantas potabilizadoras para elaborar morteros y concretos.
Coyoacán- México
http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Resumen/TA/RO/TAO-05.pdf.

- MUJICA, Viky; PÉREZ, Cathy; LEDEZMA, Gaudy; ORTEGA, Mario. 2009
Propuesta Técnica para el Tratamiento y Disposición Final de los Lodos Provenientes de una Planta Potabilizadora. Venezuela
http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/uruguay30/VE05190_Mujica.pdf

- MAÑAS, Pilar; CASTRO, Elena; SÁNCHEZ, Juan Carlos y De Las HERAS, Jorge. 2009
Uso de lodos digeridos procedentes de una Estación Depuradora de Aguas Residuales de Albacete. España
<http://www.institucional.us.es/>

EFECTO DE LA ADICIÓN DE HARINA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*), QUESO CREMA Y PURÉ DE PAPA (*Solanum tuberosum*) EN LAS PROPIEDADES TÉRMICAS Y SENSORIALES DEL PATÉ DE CAMARÓN (*Penaeus vanammei*) DE LAS VARIEDADES: DE MAR (*Grande y Pomada*) Y DE PISCINA (*Mediano*)

Angélica Murillo y Diego Salazar
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
Ciudadela Huachi. Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato-Ecuador
angies_mm0902@hotmail.com

RESUMEN

El trabajo se desarrolló con la finalidad de mejorar la calidad del paté de camarón desde su materia prima hasta el producto final, para precautelar la salud del consumidor a través de la determinación de propiedades térmicas y sensoriales en paté de camarón (*Penaeus vanammei*) de las variedades: de mar (*Grande y Pomada*); de piscina (*Mediano*) y el efecto que causa la adición de harina de quinua (*Chenopodium quinoa*), queso crema y puré de papa (*Solanum tuberosum*).

Dada la importancia que posee la calidad del paté de camarón, se determinó las propiedades térmicas, sensoriales, microbiológicas y el tiempo de vida útil del producto, así como la aceptabilidad de este.

Entre las propiedades térmicas encontramos: conductividad térmica que oscila entre 0,31 - 0,58 (W/m°C), siendo estos próximos a los bibliográficos 0,57 (W/m°C), Mosquera y Velastegui (1998), Difusividad térmica presenta valores entre $1,45 \cdot 10^{-7}$ a $1,57 \cdot 10^{-7}$ m²/s., lo que quiere decir que se mantiene en el rango bibliográfico $1,497 \cdot 10^{-7}$ m²/s. Y de $1,49 \cdot 10^{-7}$ m²/s. Los valores del análisis de calor específico (Cp) de 3,59- 3,70 (kJ/kg.°K), valores que se encuentran dentro del bibliográfico 3,669 (kJ/kg.°K) Mosquera y Velastegui (1998.). La densidad de las muestras de paté de camarón se presenta valores que van desde 1128,85 hasta 1184,21 (kg/m³), siendo altos en relación a los valores bibliográficos expuestos por Mosquera y Velastegui (1998) que son próximos a 1028,94 (kg/m³). Y por el método de CHOI y OKOS de 1098,45(kg/m³). Esto se debe a que los valores reportados por Mosquera y Velastegui son para la producción y control de calidad de pastas a partir de carne de camarón variedad (*Penaeus vannamei*), que podrían ser comparados ya que los productos tienen similar composición.

Todas las propiedades se encuentran dentro del rango calculado por el modelo CHOI y OKOS.

Se realizó un análisis sensorial para determinar el grado de aceptabilidad del paté de camarón es así que de los nueve tratamientos, la muestra número 798 (a1b0, puré de papa, Camarón de piscina variedad (*Mediano*) presenta el 98% de aceptabilidad en los atributos de: color, olor, sabor, textura. Por lo que sus características: olor, perceptible; color, rosa; sabor, gusta mucho; textura, untable y aceptabilidad, agrada mucho. Por lo tanto es el mejor tratamiento y el que mejor grado de aceptabilidad presenta.

Se estableció el tiempo de vida útil en el mejor tratamiento de paté de camarón a1b0 (Puré de papa, Camarón de piscina variedad (*Mediano*) a partir de un análisis microbiológico. Es así que en el análisis no se observó crecimiento de microorganismos durante el almacenamiento en refrigeración por ocho semanas (<10 ufc/g). Siento el tiempo determinado de 34 días, valor que se encuentra dentro de los estándares establecidos para conservas en refrigeración, debido a la cadena de frío que evita la proliferación de microorganismos y reduce las reacciones enzimáticas del producto.

Es así que se llegó a la conclusión que la adición de estos ingredientes en el paté de camarón influye significativamente en las propiedades térmicas debido a que estos aditivos provocan un cambio en la composición y características del producto. Sin embargo las propiedades térmicas en productos marinos como en el camarón, permiten controlar la calidad del producto para evitar intoxicaciones alimentarias.

Palabras Claves: camarón, paté, propiedades térmicas, propiedades sensoriales.

1. Introducción

Los recursos pesqueros son una excelente fuente de alimentación, el camarón es el principal crustáceo explotado en las costas ecuatorianas siendo que en las tres últimas décadas la producción se ha incrementado considerablemente gracias a la aplicación de nuevas tecnologías tanto en la pesca como en la industrialización [1] [9]. Sin embargo los acuicultores han tenido que enfrentar problemas relacionados con el deterioro de la calidad de la carne, debido principalmente a la falta de información sobre el manejo de procesos térmicos. Que pueden garantizar la calidad de la materia prima. [2].

Estudios en nutrición, dicen que los camarones son una excelente fuente de proteínas de alta calidad de grasas polinsaturadas, así como de vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, B6, B12, y ácido pantoténico) y minerales (calcio, cinc, cobre, flúor y fósforo). [3][11].

La Ingeniería en Alimentos debe dar alternativas tecnológicas nuevas para el aprovechamiento de todos nuestros recursos, uno de ellos es el sector pesquero más específicamente el del camarón. [4].

Las propiedades térmicas, en Ingeniería de Alimentos sirven para calcular cargas de calor y flujos de calor, y para fijar criterios sobre puntos críticos durante un proceso. En Tecnología de Alimentos son útiles para el control de calidad de materia prima, durante su transformación y en los productos elaborados. Se describen métodos simples para cuantificar las principales propiedades térmicas y se demuestra su validez. Unas de las propiedades térmicas tenemos Conductividad, difusividad, conductividad y capacidad térmica. [5].

Los productores de alimentos están obligados a cumplir normas en el ámbito nacional (Código Alimentario) y otros específicos para productos determinados, para asegurar la calidad mínima o inocuidad de los alimentos. Los consumidores exigen cada vez más atributos que le aseguren la calidad de los productos que adquieren para satisfacer sus necesidades en términos nutricionales y de calidad. [6].

El paté es un embutido de hígado fino, llamado con frecuencia como el rey de los embutidos; las características del embutido de hígado, de pescado, de camarón, selectos son de gran prestigio y altamente apreciados por el público. [7].

Además de ser nutritivos es que existen diferentes grados de calidad por lo que existen productos caros y baratos, lo que implica estar al alcance de todas las clases sociales. El paté es un preparado o mezcla de aditivos e ingredientes para la elaboración de patés, mediante el empleo de este preparado añadido a la masa cárnica se consigue un producto de excelente

aroma y jugosidad, con un aspecto verdaderamente tradicional. [8].

El propósito del trabajo de investigación es evaluar el efecto de la adición de harina de quinua (*Chenopodium quinoa*), queso crema y puré de papa (*Solanum tuberosum*) en las propiedades térmicas y sensoriales del paté de camarón (*Penaeus vanammei*) de las variedades: de mar (*Grande y Pomada*) y de piscina (*Mediano*.)

2. Materiales y Métodos

2.1. Preparación del paté de camarón (*Penaeus vanammei*) de las variedades: de mar (*Grande y Pomada*); de piscina (*Mediano*), con la adición de harina de quinua (*Chenopodium quinoa*), queso crema y puré de papa (*Solanum tuberosum*)

Se prepararon las muestras de paté de camarón según los tratamientos establecidos por uno diseño experimental: en la cual el Factor A, son sustitutos de harina de quinua, puré de papa y queso crema; el factor B corresponde a las variedades de camarón, con tres replicas réplica.[13]

De acuerdo a la formulación y a la tecnología aplicada se procedió a la elaboración de las muestras de paté.

2.2. Determinación de propiedades térmicas

Difusividad térmica en alimentos cilíndricos:

Las determinaciones de difusividad térmica se realizaron en 9 muestras por triplicado de paté de camarón. Los cambios de temperatura se registraron con una termocupla, localizada sobre el centro del cilindro de cobre. Para confirmación de los datos se trabajo con cilindros de geometría infinita aislados en los extremos con tapas de cobre y se aplico la siguiente ecuación (Charm, 1981)

$$\alpha = \frac{0.398}{\left(\left(\frac{1}{R^2} \right) + \left(\frac{0.427}{b^2} \right) \right)} f \quad (m^2/seg) \text{ Ec.1}$$

Conductividad térmica (método de la sonda):

Los valores para el cálculo de conductividad por el método de la sonda se obtienen directamente del computador los cuales se ingresaron se corren en un programa en Excel para obtener de esta manera el valor de conductividad.

$$\frac{4\pi \cdot \Delta T}{q} \cong \frac{1}{k} \cdot \ln(t) \pm b \quad (\text{W/mk}) \text{ Ec.2}$$

Calor específico:

En un calorímetro se obtiene los valores de masa de agua, masa del paté, temperatura de equilibrio entre el agua y la muestra, temperatura del paté, temperatura inicial del agua en el termo

$$C_p = \frac{(C_{pH_2O})(M_{H_2O})(T_f - T_e)}{(M_p)(T_e - T_p)} \quad (\text{cal/ kg}^\circ\text{C}) \text{ Ec. 3}$$

Densidad:

La densidad se determina pesando una determinada muestra y midiendo el volumen de la misma. Se aplica la siguiente ecuación.

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (\text{Kg/m}^3) \text{ Ec. 4}$$

Método CHOI y OKOS

2.3. Análisis sensorial

La evaluación sensorial es una técnica de medición y análisis tan importante como los métodos de propiedades térmicas, microbiológicos. En este tipo de análisis tiene la ventaja que las personas que efectúan esta prueba llevan consigo sus propios instrumentos de análisis, es decir sus sentidos: vista, olfato, gusto, tacto, oído [10]. Es por ello que están aptos para realizar una prueba de catación y llevan el nombre de jueces no entrenados.

Se consideró un diseño de bloques incompletos con un número de 12 catadores no entrenados. Una vez obtenidos los resultados se procedió a la tabulación de datos utilizando el programa Microsoft Excel. Y el estadístico STATGRAPHICS PLUS

2.4. Tiempo de vida útil

Se estableció el tiempo de vida útil mediante un análisis microbiológico del mejor tratamiento el mismo que se llevo a cabo en la empresa Técnica y Comercio de la Pesca "TECOPECA" durante ocho semanas.

Los microorganismos analizados fueron:

Anaerobios Mesófilos
Anaerobios Termófilos
Aerobios Mesófilos
Aerobios Termófilos

Para el cálculo del tiempo de vida útil del producto se tomo en cuenta la ecuación siguiente.

$$\ln C_0 = \ln C + kt \quad \text{Ec. 5}$$

3. Resultados y Discusión

3.1. Propiedades térmicas

Difusividad térmica: Se registraron datos de tiempo y temperatura para las pruebas con paté de camarón con la adición de harina de quinua (*Chenopodium quinoa*), queso crema y puré de papa (*Solanum tuberosum*), de las variedades: de mar (Grande y Pomada); de piscina (Mediano) los cuales se graficaron en escala semilogarítmica invertida, luego de un periodo de atemperamiento próximo a los cincuenta minutos, define una sección lineal con la cual se determina la constante de velocidad de calentamiento (f), (Tabla N°1), pues en forma directa corresponde al tiempo requerido para que la sección recta atraviese un ciclo logarítmico.

Al considerar las variaciones de temperatura – tiempo y a las dimensiones del recipiente utilizado, su geometría corresponde a cilindros b mitad de la altura (m) 0,1 R radio (m) 0,0255 finitos con su coeficiente de transferencia de calor alto se puede determinar la difusividad térmica aplicando la siguiente ecuación. (Charm, 1981). Ec.1.

En la Tabla N°1, se presentan los valores de la difusividad térmica correspondiente a las 9 muestras de paté consideraras.

Las muestras a0b0; a0b2; a1b0; a1b1; a1b2; a2b0; a2b1a1b1, a2b2; presentan valores de difusividad térmica entre $1,447 \cdot E(-7)$ a $1,574 \cdot E(-7)$ m^2/s , encontrándose dentro del rango del valor bibliográfico. La muestra de paté a0b1 tiene un valor bajo de difusividad que debe deberse a las características y composición de la misma.

Mosquera y Velastegui (1998) reportaron datos para la producción y control de calidad de pastas a partir de carne de camarón variedad (Penaeus vannamei) próximos a $1,497 \cdot E(-7)$ m^2/s .

Tabla 1. Valores de difusividad térmica y de la constante de velocidad de calentamiento (f) determinados en 9 muestras de paté de camarón.

| MUESTRAS | VALOR f | DIFUSIV | UNIDADES |
|----------|---------|-----------|-----------|
| a0b0 | 1740 | 1,447E-07 | m^2/seg |
| a0b1 | 2110 | 1,193E-07 | m^2/seg |
| a0b2 | 1700 | 1,481E-07 | m^2/seg |
| a1b0 | 1620 | 1,554E-07 | m^2/seg |
| a1b1 | 1700 | 1,481E-07 | m^2/seg |
| a1b2 | 1710 | 1,473E-07 | m^2/seg |
| a2b0 | 1600 | 1,574E-07 | m^2/seg |
| a2b1 | 1740 | 1,447E-07 | m^2/seg |
| a2b2 | 1740 | 1,447E-07 | m^2/seg |

Conductividad térmica: mediante el método de la sonda se obtuvo un historial de tiempo y temperatura la cual se realiza por el monitoreo de la disipación del calor desde una fuente de calor lineal producida por un voltaje conocido.

Lo cual nos permite graficar el logaritmo natural (ln) del tiempo (seg) vs $4PI(\Delta TC/Q)$ variación de temperatura donde a medida que transcurre el tiempo la temperatura va aumentando por que la transferencia de calor del cilindro a la muestra es más alta hasta llegar a un punto donde se va haciendo constante.

De la cual se selecciona un intervalo de ln t donde se observa una tendencia lineal en un intervalo seleccionado para determinar la regresión (Tabla N°2), se muestra también los valores del coeficiente de relación (R^2) para cada una de los tratamientos, siendo en un promedio de 0,98.Ec. 2

Tabla 2. Valores promedio de k (Conductividad térmica) de las muestras de paté de camarón

| Muestras | R1 | R2 | k (W/m°C) |
|----------|-------|-------|--------------|
| a0b0 | 0,58 | 0,575 | 0,578 |
| a0b1 | 0,436 | 0,359 | 0,398 |
| a0b2 | 0,394 | 0,45 | 0,422 |
| a1b0 | 0,306 | 0,305 | 0,305 |
| a1b1 | 0,354 | 0,379 | 0,367 |
| a1b2 | 0,359 | 0,35 | 0,354 |
| a2b0 | 0,462 | 0,456 | 0,459 |
| a2b1 | 0,326 | 0,381 | 0,354 |
| a2b2 | 0,464 | 0,335 | 0,400 |

En la Tabla N°2. Se presenta los valores calculados de conductividad térmica por el método de la sonda de las nueve muestras (dos réplicas) de paté de camarón. Los resultados experimentales de las muestras: a0b0, a0b2, a2bo, a2b2 (0,578; 0,422; 0,459; 0,400 $W/m^{\circ}C$). Respectivamente, son próximos a los bibliográficos 0.57 ($W/m^{\circ}C$) Mosquera y Velastegui (1998), lo que quiere decir que se encuentra en el rango de los valores de la conductividad.

Las muestras (a0b1; a1bo; a1b1; a1b2; a2b1), varían entre 0,305 – 0,398 $W/m^{\circ}C$ siendo valores bajos de conductividad térmica pero están dentro del rango.

Es difícil realizar una comparación estricta entre los valores de conductividad térmica experimentales y los reportados ya que se conoce que en la elaboración de paté se utilizaron diferentes variedades de camarón con la adición de harina de quinua, puré de papa y queso crema, lo que difieren en las características y composición del producto.

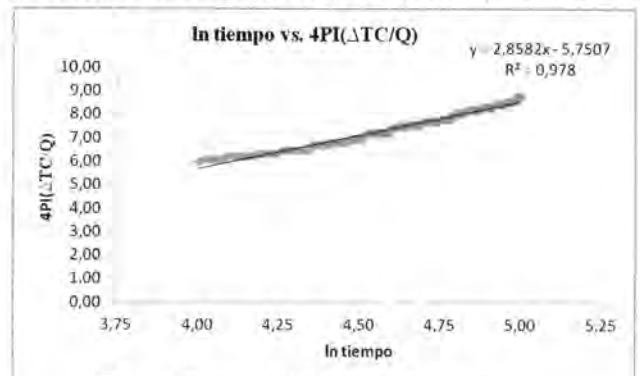


Figura 1. Representación grafica de la relación ln tiempo vs. $4PI(\Delta TC/Q)$ de la muestra a1b2

Calor específico: Los datos registrados en pruebas con paté de camarón (*Penaeus vanammei*) con la adición de harina de quinua (*Chenopodium quinoa*), queso crema y puré de papa (*Solanum tuberosum*), de las variedades: de mar (Grande y Pomada) y de piscina (Mediano) son de la temperatura del agua fría y al ambiente, temperatura de equilibrio, ρ y C_p del agua y para la muestra de paté la temperatura de la muestra y de equilibrio y el peso estos valores con la ecuación 3 se calculó el cálculo de calor específico.

Los valores de calor específico (C_p) se detallan en la Tabla N°3, correspondiente a las 9 muestras de paté consideraras. Es así que el calor específico se encuentra entre 3,587- 3,702 (kJ/kg.°K), valores que se encuentran dentro del rango del valor bibliográfico 3,669 (kJ/kg.°K) Mosquera y Velastegui (1998).

El calor específico de un alimento es una medida de cantidad de energía necesaria para elevar una unidad de temperatura. El calor específico es dependiente de la temperatura. Sin embargo, para el propósito de muchos cálculos térmicos, estas variaciones son pequeñas y se usa un valor medio del calor específico para el rango de temperatura considerado.

Tabla 3. Valores de calor específico (C_p) determinados en 9 muestras de paté de camarón en tres replicas y promedio por cada una

| MUESTRAS | Cp | | | Cp(kJ/kg.K) |
|----------|-------|-------|-------|-------------|
| | R1 | R2 | R3 | |
| a0b0 | 3,616 | 3,671 | 3,821 | 3,702 |
| a0b1 | 3,568 | 3,709 | 3,585 | 3,621 |
| a0b2 | 3,674 | 3,677 | 3,573 | 3,641 |
| a1b0 | 3,598 | 3,687 | 3,692 | 3,659 |
| a1b1 | 3,646 | 3,812 | 3,635 | 3,698 |
| a1b2 | 3,616 | 3,703 | 3,443 | 3,587 |
| a2b0 | 3,633 | 3,626 | 3,719 | 3,659 |
| a2b1 | 3,642 | 3,488 | 3,631 | 3,587 |
| a2b2 | 3,622 | 3,626 | 3,729 | 3,659 |

Densidad: para el cálculo de la densidad se aplica la Ec. 4. En la Tabla N°4 se presentan los resultados obtenidos de densidad para las muestras de paté de camarón con la adición de harina de quinua (*Chenopodium quinoa*), queso crema y puré de papa (*Solanum tuberosum*), de las variedades: de mar (Grande y Pomada) y de piscina (Mediano) la cual se encuentra entre 1128,85 – 1184,21 (kg/m³).

Mosquera y Velastegui (1998) reportaron datos para la producción y control de calidad de pastas a partir de carne de camarón variedad (*Penaeus vannamei*) para densidad próximos a 1028,94 (kg/m³).

Tabla N° 4. Valores promedio de densidad de las muestras de paté de camarón

| MUESTRAS | R1 | R2 | R3 | DENSIDAD | UNIDAD |
|----------|--------|--------|--------|----------|--------|
| a0b0 | 1,1321 | 1,1369 | 1,1449 | 1137,97 | kg/m³ |
| a0b1 | 1,1016 | 1,1768 | 1,1479 | 1142,08 | kg/m³ |
| a0b2 | 1,1193 | 1,1480 | 1,1193 | 1128,85 | kg/m³ |
| a1b0 | 1,1814 | 1,1627 | 1,1480 | 1164,05 | kg/m³ |
| a1b1 | 1,1262 | 1,1918 | 1,1479 | 1155,29 | kg/m³ |
| a1b2 | 1,1718 | 1,1918 | 1,1890 | 1184,21 | kg/m³ |
| a2b0 | 1,1755 | 1,1889 | 1,1620 | 1175,48 | kg/m³ |
| a2b1 | 1,1891 | 1,1454 | 1,1851 | 1173,22 | kg/m³ |
| a2b1 | 1,1634 | 1,1787 | 1,1814 | 1174,49 | kg/m³ |

CHOI y OKOS: para el paté de camarón se aplicó los modelos matemáticos de CHOI y OKOS los cuales permiten determinar las propiedades térmicas de un alimento con la composición proximal del producto aquí intervienen en porcentaje de proteínas, cenizas, humedad y grasa. En la cual se comparó los valores calculados experimentales y los obtenidos mediante estos modelos de ecuaciones (muestras almacenadas a $5 \pm 2^\circ\text{C}$.)

Como se observa en la Tabla N°5 los valores cálculos experimentales están dentro del rango de los cálculos a partir de las ecuaciones de CHOI Y OKOS (1986)

Comparando los resultados entre muestras podemos decir la composición y característica del producto influye en sus propiedades térmicas como en la conductividad, difusividad térmica, calor específico y densidad sus valores varían en pequeñas cantidades pero es significativo a la hora de la comparación.

Tabla N° 5 Valores experimentales y valores a partir de CHOI Y OKOS de propiedades térmicas para los tratamientos de paté de camarón

| Muestras | PROPIEDADES TERMICAS EXPERIMENTALES | | | | CHOI Y OKOS | | | |
|----------|-------------------------------------|-------------------|--------------|----------------|-------------|-------------------|--------------|----------------|
| | k (W/m²C) | α (m²/seg) | Cp (kJ/kg.K) | ρ (kg/m³) | k (W/m²C) | α (m²/seg) | Cp (kJ/kg.K) | ρ (kg/m³) |
| a0b0 | 0,578 | 1,45E-07 | 3,702 | 1137,97 | 0,526 | 1,50E-07 | 3,628 | 1098,45 |
| a0b1 | 0,398 | 1,19E-07 | 3,621 | 1142,08 | 0,526 | 1,50E-07 | 3,628 | 1098,45 |
| a0b2 | 0,422 | 1,48E-07 | 3,641 | 1128,85 | 0,526 | 1,50E-07 | 3,628 | 1098,45 |
| a1b0 | 0,305 | 1,55E-07 | 3,659 | 1164,05 | 0,526 | 1,50E-07 | 3,628 | 1098,45 |
| a1b1 | 0,367 | 1,48E-07 | 3,698 | 1155,29 | 0,526 | 1,50E-07 | 3,628 | 1098,45 |
| a1b2 | 0,354 | 1,47E-07 | 3,587 | 1184,21 | 0,526 | 1,50E-07 | 3,628 | 1098,45 |
| a2b0 | 0,459 | 1,57E-07 | 3,659 | 1175,48 | 0,526 | 1,50E-07 | 3,628 | 1098,45 |
| a2b1 | 0,354 | 1,45E-07 | 3,587 | 1173,22 | 0,526 | 1,50E-07 | 3,628 | 1098,45 |
| a2b2 | 0,4 | 1,45E-07 | 3,659 | 1174,49 | 0,526 | 1,50E-07 | 3,628 | 1098,45 |

3.2. Análisis sensorial

Para llevar a cabo esta prueba se utilizaron escalas hedónicas de: color, olor, sabor, textura y aceptabilidad, para la cual se sometieron a 12 panelistas a la catación en las cuales se tomo en cuenta el análisis de bloques incompletos

Color: Para el parámetro de color se calculo el análisis de varianza de varianza en el que, el estadístico de prueba, $F= 2,59$, es un valor menor al F calculado $8,05$, es decir que se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto para un nivel de significancia del 5% estadísticamente los nueve tratamientos de paté de camarón sometidos a la cata presentan diferencias significativas en este atributo. Es así que para los catadores las muestras de paté de camarón que contienen harina de quinua $a0b0$ (527); $a0b1$ (956); $a0b2$ (567) presentan un color café claro. Para las muestras de paté de camarón que contienen puré de papa $a1b0$ (798); $a1b1$ (848); $a1b2$ (277) son de tonalidad rosa y para las muestras que contienen queso crema $a2b0$ (345); $a2b1$ (678); $a2b2$ (123) su color es crema.

Siendo el color crema más agradable para la vista del consumidor en el tratamiento 798 ($a1b0$, Puré de papa, Camarón de piscina variedad (Mediano).

Olor: presenta un análisis de varianza en el que, el estadístico de prueba, $F= 2,59$, es un valor menor al F calculado $6,06$, es decir que se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto los nueve tratamientos de paté de camarón tienen distinto olor a un nivel de significancia del 5%. Es así que para las muestras de paté de camarón que contienen harina de quinua el olor es muy perceptible (a quinua), las muestras que contienen puré de papa el olor es característico (camarón) y el olor para las muestras con adición de queso crema es perceptible (queso).

De los tratamientos el que mejor olor (característico) presento es el tratamiento 848 ($a1b1$, Puré de papa, Camarón de mar variedad (Grande).

Sabor: siendo el estadístico de prueba, $F= 2,59$, es un valor menor al F calculado $5,2$ lo que quiere decir que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, los tratamientos de paté de camarón se presentan diferencias significativas en el sabor para los panelistas a la hora de la cata, a un nivel de significancia del 5%.

Por lo tanto para las muestras de paté de camarón que contienen harina de quinua a los catadores ni les gusta ni les disgusta; para las muestras que contienen puré de papa les gusta mucho y para muestras con adición de queso crema les gusta.

Es así que el mejor tratamiento referente al sabor es el 798 ($a1b0$, Puré de papa, Camarón de piscina variedad Vanammei).ya que a los catadores les gusta mucho.

Textura: Dando que la razón de varianza el valor de $F= 2,5$, calculado (Anexo G 4) para los tratamientos ha resultado menor que el valor crítico $F= 2,59$ se acepta la hipótesis nula con un nivel de significancia del 5%. En consecuencia, todos los tratamientos tienen el mismo efecto en los catadores.

Aceptabilidad: Dando que el estadístico de prueba $F= 2,59$, es un valor menor que la razón $F= 8,21$ que ha sido calculada se rechaza la hipótesis nula, los tratamientos son diferentes para los catadores, (Anexo G 5) a un nivel de significancia del 5%. En lo que se refiere a las muestras con la adición de harina de quinua para los catadores no es agradable, lo que no pasa con las muestras que contienen puré de papa que al contrario les agrada al igual que las muestras con queso crema.

Es así que de los nueve tratamientos el que mayor aceptabilidad presento a la cata es la muestra número 798 ($a1b0$, Puré de papa, Camarón de piscina variedad (Mediano) es la que mejor características presenta a la hora de la tabulación de los datos, es decir que los doce catadores el 98% están de acuerdo que dicha muestra tiene el mejor color, olor, sabor y aceptabilidad. Por lo tanto es el mejor tratamiento.

3.3. Tiempo de vida útil

Para la determinación del tiempo de vida útil se realizo un análisis microbiológico tomando en cuenta solamente el mejor tratamiento del paté de camarón, muestra $a1b0$ (Puré de papa, Camarón de piscina variedad (Mediano). El cual fue analizado en el Departamento de Control de Calidad en el área de microbiología de la empresa TECOPESCA (Manta).

En los resultados obtenidos en el análisis microbiológico del paté de no se observo el crecimiento de microorganismos durante el almacenamiento en refrigeración por ocho semanas (<10 ufc/g). (Tablas N°6).

Tabla N°6 Análisis microbiológico de (ufc/g)*10⁻¹ del paté de camarón del mejor tratamiento a1b0 (Puré de papa, Camarón de piscina variedad Mediano).

| | Análisis inicial | Control 1 UFC/g | Control 2 UFC/g | Control 3 UFC/g | Control 4 UFC/g |
|-----------------------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Ensayos realizados | Resultados | Resultados | Resultados | Resultados | Resultados |
| Anaerobios mesófilos | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g |
| Anaerobios termófilos | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g |
| Aerobios mesófilos | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g |
| Aerobios termófilos | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g |

Continuación de la Tabla N°6 Análisis microbiológico de (ufc/g)*10⁻¹ del paté de camarón del mejor tratamiento a1b0 (Puré de papa, Camarón de piscina variedad Mediano).

| | Control 5 UFC/g | Control 6 UFC/g | Control 7 UFC/g | Control 8 UFC/g | |
|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------|
| Ensayos realizados | Resultados | Resultados | Resultados | Resultados | Requisitos |
| Anaerobios mesófilos | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | Ausencia. |
| Anaerobios termófilos | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | Ausencia. |
| Aerobios mesófilos | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | Ausencia. |
| Aerobios termófilos | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | <10 ufc/g | Ausencia. |

Por tanto para la determinación del tiempo de vida útil se tomo como variable el pH por cada semana de almacenamiento en refrigeración.

Los valores de pH del paté de camarón del mejor tratamiento (a1b0) almacenado a refrigeración durante 46 días varían de 5,4 a 5,2 teniendo como promedio 5,3

A continuación se muestra la Figura 2 que relaciona el tiempo en días vs logaritmo natural de pH, donde se observa que existe una relación directamente proporcional, lo cual indica que a medida que transcurre el tiempo el pH en la muestra va disminuyendo paulatinamente.

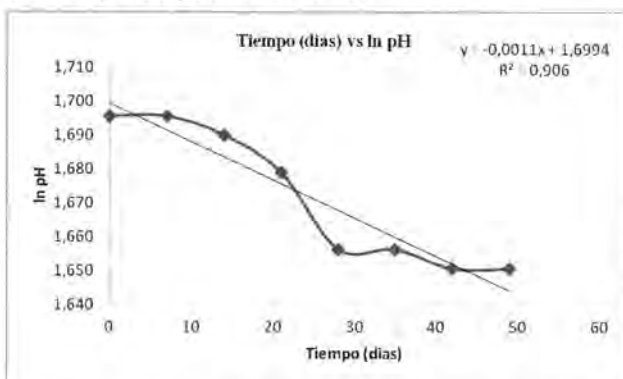


Figura 2. Representación grafica de la relación Tiempo (días) vs. ln de pH para el mejor tratamiento a1b0 (Puré de papa, Camarón de piscina variedad Vanammei). Almacenada en refrigeración 5 +/- 2 °C

Por tanto para la determinación del tiempo de vida útil se tomo como variable el pH por cada semana de almacenamiento en refrigeración.

Para establecer el tiempo que el producto se mantiene estable se aplico la Ec.5. y como resultado para la muestra a1b0 (Puré de papa, Camarón de piscina variedad Mediano) almacenada a temperatura de refrigeración, un tiempo de vida útil de 34 días valor que se considera como aceptable dentro de los estándares permitidos para conservas almacenadas en frío.

4. Conclusiones

Se estableció la diferencia en la adición de harina de quinua (*Chenopodium quinoa*), queso crema y puré de papa (*Solanum tuberosum*) en las propiedades térmicas y sensoriales del paté de camarón (*Penaeus vanammei*) de las variedades: de mar (Grande y Pomada) y de piscina (Mediano). Es así que se llegó a la conclusión que la adición de estos ingredientes en el paté de camarón influye significativamente en las propiedades térmicas debido a que estos aditivos provocan un cambio en la composición y características del producto. Sin embargo las propiedades térmicas en productos marinos como en el camarón, permiten controlar la calidad del producto para evitar intoxicaciones alimentarias.

Se determinó el análisis de propiedades térmicas en paté de camarón de diferentes variedades con la adición de harina de quinua, queso crema y puré de papa. Es que las nueve muestras de paté de camarón presentan valores de conductividad oscila entre 0,305 - 0,578 (W/m°C), siendo estos próximos a los bibliográficos 0,57 (W/m°C), Mosquera y Velastegui (1998), 0,309 - 0,568 CHOI Y OKOS.

El análisis de difusividad térmica correspondiente a las nueve muestras de paté de camarón consideradas en escala semilogarítmica invertida, define una sección lineal con la cual se determina la constante de velocidad de calentamiento (f) durante casi la mayor parte del periodo experimental, lo que indica que el mecanismo de transferencia de calor en el paté de camarón es conducción y cumple con las condiciones básicas del método. Presentando valores de la difusividad entre 1,447* E (-7) a 1,574*E (-7) m²/s., lo que quiere decir que se mantiene dentro del rango bibliográfico 1,497*E (-7) m²/s. (Mosquera y Velastegui 1998). Y de 1,498*E (-7) m²/s. por el método de CHOI Y OKOS

Los valores del análisis de calor específico (C_p) se encuentra entre 3,587- 3,702 (kJ/kg.°K), valores que se encuentran dentro del rango bibliográfico 3,669 (kJ/kg.°K) Mosquera y Velastegui (1998); 3,628 (kJ/kg.°K) método de CHOI Y OKOS.

La densidad de las muestras de paté de camarón se presenta n valores que van desde 1128,85 hasta 1184,21 (kg/m³), siendo altos en relación a los valores bibliográficos expuestos por Mosquera y Velastegui (1998) que son próximos a 1028,94 (kg/m³). Y por el método de CHOI y OKOS de 1098,45(kg/m³). Esto se debe a que los valores reportados por Mosquera y Velastegui son para la producción y control de calidad de pastas a partir de carne de camarón variedad (*Penaeus vannamei*), que podrían ser comparados ya que los productos tienen similar composición.

Es difícil realizar una comparación estricta entre los valores de conductividad, difusividad térmica, calor específico y densidad experimentales y los reportados bibliográficamente ya que se conoce que en la elaboración de paté se utilizaron diferentes variedades de camarón con la adición de harina de quinua, puré de papa y queso crema, lo que difieren en las características y composición del producto lo que no pasa con el método de CHI y OKOS que se calculo con la composición proximal de producto siendo estos cercanos a los calculados experimentalmente.

Se realizó un análisis sensorial para determinar el grado de aceptabilidad del paté de camarón es así que de los nueve tratamiento, la muestra numero798 (a1b0, puré de papa, Camarón de piscina variedad Mediano) presenta el 98% de aceptabilidad para el catador. Por lo que sus características: olor, perceptible; color, rosa; sabor, gusta mucho; textura, untable y aceptabilidad, agrada mucho. Por lo tanto es el mejor tratamiento y el que mejor grado de aceptabilidad

Se estableció el tiempo de vida útil en el mejor tratamiento de paté de camarón a1b0 (Puré de papa, Camarón de piscina variedad Mediano) es a partir de un análisis microbiológico. Tal es así que en análisis no se observó crecimiento de microorganismos durante el almacenamiento en refrigeración por ocho semanas (<10 ufc/g). Siento el tiempo determinado

de 34 días, valor que se encuentra dentro de los estándares establecidos para conservas en refrigeración, debido a la cadena de frío que evita la proliferación de microorganismos y reduce las reacciones enzimáticas del producto.

Lo que quiere decir que el producto es apto para el consumo humano y está libre de contaminación.

5. Referencias Bibliográficas

[1] Ortiz, D. 2004. Evaluación de Calidad Microbiológica en Productos marinos Comercializados en la Ciudad de Ambato. Tesis 319. pág. 1-4.

[2] Lacera Rúa et al. 1990. Aprovechamiento del camarón y otros crustáceos para la alimentación animal y humana. En: Revista Ingeniería Pesquera/Armando Lacera Rúa. 10, No10 (ene-dic 1990).Santa Marta (Colombia). Anual. ISSN 0120-1883. 107.

[3] Andrade, G. (1996). Análisis de la pesquería del camarón blanco, *Penaeusschmitti*Burkenroad 1936, en el Lago de Maracaibo, Venezuela. Tesis de Magister en Ciencias del Mar. Universidad Católica del Norte. Chile. (publicado en el 2000).

[4] Gayana 2002 on the biology of the freshwater crayfish *samastacus spinifrons* (philippi 1882) (decapoda, parastacidae)

[5] Alvarado, Juan De Dios., (1996.) "Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos". Editorial Radio Comunicaciones. Artes Gráficas. Ambato-Ecuador.pp201-217,376-398.

[6] Apolo V. María del Cisne. (2009), "Empleo de estabilizantes en el tiempo de vida útil del paté de Hongos", Ambato- Ecuador, pp 17,18.

[7] Bertullo, V.H. 2003. Trabajo de Doctorado in the University of the Witwatersrand. Faculty of Engineering. Johannesburg. disponible en: <http://www.energy.Demon.nl/thesis/AppdxD.htm> Consultado el 05/03/11.

[8] Martínez, J.2007. Paté de Cecina" disponible en: <http://www.stacatalina.net> consultado 10/03/11.

[9] Jara, C.G. 2000. Camarones dulceacuícolas en Chile. Informe técnico-científico. Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile, pp 15.

[10] Cochram, William, (1973), "Diseño Experimental", 2da edición, editorial Trillas, Mexico – México, pp: 471,522.

[11] Herras, G y Larrea, G (1996), Camarón y Subproductos de Camarón (*Penaeus vannamei*): Secado por Aspersión. pp 2-8. UTA- FCIAL. Tesis de Grado. Ambato – Ecuador.

[12] Mosquera, R y Velastegui, J, (1998), Producción y Control de la Calidad de Pastas a partir de carne de Camarón (*Penaeus vannamei*) Tipo Pomada. pp 5-16. UTA- FCIAL. Tesis de grado. Ambato- Ecuador.

[13] Saltos, Aníbal, (1993), 'Diseño Experimental', Editorial Universitaria, UTA, Ambato Ecuador. , pp: 36-44.

[14] CODEX STAN (165-1989), NTON 03 014 – 98 NORMA PARA LOS CAMARONES CONGELADOS RÁPIDAMENTE, disponible en: <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/MarcoLegalCRIA/NTON0301498NIPesca.htm> Consultado el 09/03/11.

[15] CODEX STAN 37-(1981) NTON 03 013 – 98 NORMA PARA LOS CAMARONES EN CONSERVA disponible en: <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/MarcoLegalCRIA/NTON0301398NIPesca.htm> Consultado el 09/03/11.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD NUTRICIONAL Y SENSORIAL DE TORTILLAS PRECOCIDAS ELABORADAS CON PAPA NATIVA (*Solanum andígena*) DE TRES VARIEDADES (*Yema de huevo, Leona negra y Chaucha roja*) Y ENRIQUECIDAS CON PASTA DE CHOCHO (*Lupinus mutabilis*).

Chasi, Cristina^{1}; Ramos, Milton² y Silva, Mònica³*

1 Egresada – FCIAL; 2 Docente – FCIAL; 3 Investigadora UOITA

* e-mail: crissita_ingfood@hotmail.com

Universidad Técnica de Ambato (UTA) - Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL)
Campus Huachi, Av. Los Chasquis y Río Payamino, e-mail: fcial@uta.edu.ec

Palabras clave: papas nativas, chocho, tortillas precocidas.

RESUMEN

La presente investigación se orienta a la búsqueda de nuevas tecnologías de procesamiento que contribuyan al mejoramiento de los métodos de conservación de las papas nativas, mediante la elaboración de tortillas o llapingachos de papas precocidas refrigeradas y el uso de conservantes para alargar su tiempo de vida útil. El objetivo general de este trabajo fue evaluar la calidad nutricional y sensorial de tortillas precocidas elaboradas con papa nativa (*Solanum andígena*) de tres variedades (*Yema de huevo, Leona negra y Chaucha roja*) enriquecidas con pasta de chocho. Los factores de estudio fueron, el factor A: Variedad de papa nativa, a0 = *Yema de huevo*, a1 = *Leona negra* y a2 = *Chaucha roja*; y factor B: % de pasta de chocho (*Lupinus mutabilis*), b0 = 15%, b1 = 20% y b2 = 25%. En las tortillas precocidas se realizaron análisis físico-químicos (vitamina C, pH y acidez), microbiológicos (aerobios mesófilos y mohos y levaduras) y sensoriales (color, olor, sabor, textura y aceptabilidad). Los resultados de los análisis permitieron determinar estadísticamente el mejor tratamiento, la combinación a0b1 que corresponde a papa (*Yema de huevo*) - 20% de pasta de chocho, debido a que presentó mayor contenido de vitamina C (9.51 mg/100g), baja contaminación microbiana (aerobios mesófilos 20 UFC/g, mohos y levaduras 46 UFC/g) y buena aceptabilidad (4.2). Se determinó el tiempo de vida útil en almacenamiento a 4°C, mediante recuento de mohos y levaduras, de 11 días. El análisis proximal de las muestras del mejor tratamiento y patrón, señala que existen diferencias en el contenido de proteína y grasa. Los valores de proteína y grasa para el mejor tratamiento fueron 4.19 y 0.94%, respectivamente, y 2.05 y 0.82% para la muestra patrón.

Se concluye que la concentración de pasta de chocho (20%) incrementó el valor nutricional de la tortilla de papa nativa. El rendimiento del producto fue del 75.7% en base al balance de materiales realizado; y el costo de 1 kg de tortillas de papa nativa enriquecida con pasta de chocho fue de \$ 4.08 USD, con una utilidad del 15%.

INTRODUCCIÓN

La mayor diversidad genética de papa (*Solanum tuberosum* L.), silvestre y cultivada, se encuentra en las tierras altas de los Andes, que incluye a nuestro país. En el mundo se cultivan cerca de 5000 variedades de papa. La primera crónica conocida, que menciona a la papa, fue escrita por Pedro Cieza de León en 1538, en su descripción de la larga marcha a través del territorio andino, relatando las costumbres alimenticias basadas en la papa. Martínez F., 2009.

La papa se desarrolló y cultivó por primera vez en las vecindades del Lago Titicaca, cerca de la frontera actual entre Perú y Bolivia, según los documentos arqueológicos y etnológicos disponibles, y las poblaciones andinas empezaron a comer patatas silvestres 3.000 a 4.000 años antes de nuestra era. Las papas nativas originarias de los Andes son el producto de la domesticación, selección y conservación realizada por nuestros antepasados, debido a su resistencia a plagas y enfermedades, así como a su tolerancia a factores abióticos como heladas y sequías. Las papas nativas presentan diversidad de formas, colores, sabores y otras características agronómicas y de procesamiento, que las hacen muy apetecidas. Sin embargo, algunas variedades están en peligro de extinción, mientras que otras definitivamente se han perdido.

Villacrés et al. (2010), señala que las papas nativas tienen oportunidades potenciales para el desarrollo de productos como tortillas, a más de ser una fuente excelente de nutrientes. Así, las papas nativas aportan desde un 15% (7.67 mg/100g, Calvache) hasta un 50% (26.22 mg/100g, Uvilla) del requerimiento diario de vitamina C (50 mg/100g).

De otro lado, el chocho (*Lupinus mutabilis*), oriundo de los Andes, constituye un cultivo marginal por el tipo de suelo y clima en el que habitualmente se cultiva. Representa una buena alternativa para la producción agrícola en suelos de origen volcánico, de baja fertilidad y en áreas con escasez de lluvia. Pero fundamentalmente, es la leguminosa andina con mayor contenido de proteína, grasa de alta calidad, fibra, calcio, fósforo, hierro y zinc, que la convierte en un alimento estratégico en la lucha contra la desnutrición en el área rural y urbana; con la ventaja que algunos sitios de la sierra ecuatoriana ya tienen una cultura de su consumo, ya sea solo, combinado con tostado o en "ceviche", como usualmente se lo encuentra en la zona central del país. Falconí C., 2010.

Con respecto a la tortilla de papa, algunos estudios afirman que ya la elaboraban los incas, aunque posiblemente sin huevos. En Europa, la tradición culinaria de la tortilla se remonta al ovorum, una torta que los romanos hacían a base de leche y huevos pero sin patatas. Ariansen J., 2009. Actualmente, para la elaboración de tortillas de papa se requiere de varios ingredientes, de acuerdo a las costumbres de las amas de casa, pero en general los ingredientes más comunes son: papa, queso, huevos y sal. Involucra las operaciones de: lavado, pelado, lavado, cocinado, triturado, adición de queso, huevos y sal, mezclado, moldeo y finalmente la fritura. Cabe mencionar que para la presente investigación los ingredientes utilizados fueron: las papas nativas y el chocho desamargado, este último reemplaza al queso y los huevos, debido a que tiene un alto contenido de proteína. Como ingredientes menores se encuentran el sorbato de potasio, ácido cítrico y sal.

Objetivo general

- Evaluar la calidad nutricional y sensorial de tortillas precocidas de papas nativas (Yema de huevo, Leona negra y Chaucha roja) y enriquecidas con pasta de chocho (*Lupinus mutabilis*).

Objetivos específicos

- Determinar la tecnología del proceso de elaboración de tortillas de papas nativas.

- Ensayar diferentes niveles de incorporación de pasta de chocho en tortillas de papas nativas y evaluar el mejor tratamiento.

- Determinar el tiempo de vida útil en el mejor tratamiento mediante análisis sensorial y microbiológico.

- Estimar el costo de producción del mejor tratamiento de tortillas precocidas de papas nativas enriquecidas con pasta de chocho.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se aplicó un diseño experimental AxB, con dos factores (Tabla 1):

Tabla 1. Combinación entre variables y niveles

| Tratamiento | Factor A | Factor B |
|-------------------------------|---------------|----------|
| a ₀ b ₀ | Yema de huevo | 15% |
| a ₀ b ₁ | | 20% |
| a ₀ b ₂ | | 25% |
| a ₁ b ₀ | Leona negra | 15% |
| a ₁ b ₁ | | 20% |
| a ₁ b ₂ | | 25% |
| a ₂ b ₀ | Chaucha roja | 15% |
| a ₂ b ₁ | | 20% |
| a ₂ b ₂ | | 25% |

Elaborado por: Cristina Chasi H, 2012.

Ingredientes

Papas nativas.- Se emplearon tres variedades: Yema de huevo, Leona negra y Chaucha roja.

Chocho desamargado.- Se utilizó pasta de chocho en tres porcentajes: 15, 20 y 25% para incrementar la concentración de proteína.

Sal común.- Se añadió a la mezcla en una concentración del 3% para acentuar el sabor de la tortilla.

Acido cítrico.- Acidulante utilizado para mejorar la vida de anaquel de las tortillas, en una concentración del 0.2%.

Sorbato de potasio.- Se usó en una concentración del 0.2% en peso para inhibir el crecimiento de hongos y levaduras.

Proceso de elaboración de tortillas precocidas.

La elaboración de las tortillas precocidas de papa nativa enriquecidas con pasta de chocho se presentan en los diagramas de flujo establecidos en los gráficos 1 y 2.

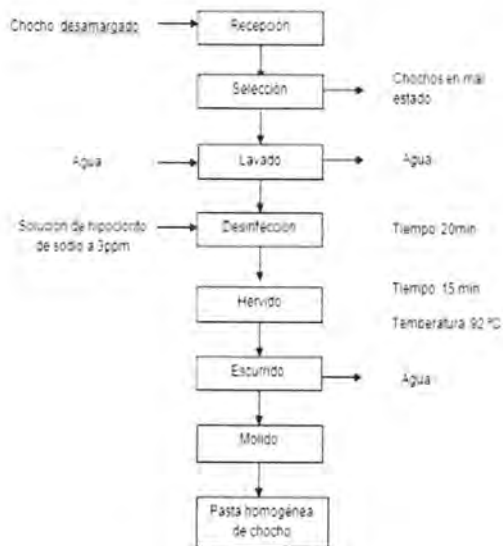


Gráfico 1. Diagrama de flujo para la elaboración de pasta de chocho.

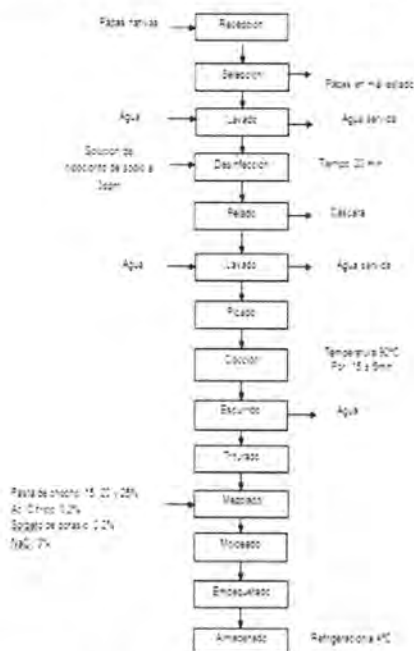


Gráfico 2. Diagrama de flujo de la elaboración de tortillas precocidas de papa nativa enriquecidas con pasta de chocho.

Análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales.

Se realizaron análisis físico-químicos (vitamina C, pH y acidez), microbiológicos (aerobios mesófilos y mohos y levaduras) y sensoriales (color, olor, sabor, textura y aceptabilidad) de las tortillas.

Además, se determinaron: la vida útil, el análisis proximal, el rendimiento y el costo del producto en el mejor tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS

• Vitamina C

En el gráfico 3 se observa la variación del contenido de vitamina C en las tortillas de papa, donde la variedad Yema de huevo posee mayor contenido de vitamina C (media 9.49 mg /100g) en relación a las tortillas de papa de las variedades Leona negra (8.55 mg/100g) y Chaucha roja (8.27 mg/100g).



Gráfico 3. Contenido de vitamina C (mg/100g) en tortillas precocidas y enriquecidas.

• Acidez

En el gráfico 4, se observa que el % de ácido cítrico en las tortillas de papa nativa enriquecida con chocho, presenta un ligero declive entre 0.05 y 0.04 en las tres variedades, conforme se incrementa el % de chocho.



Gráfico 4. Acidez (% de Acido cítrico) en tortillas precocidas y enriquecidas.

• pH

En el gráfico 5 se observa un ligero incremento del pH en las tortillas de papa de las tres variedades, conforme se incrementa el % de chocho, lo cual es coherente con los resultados de acidez. Los valores de pH se encuentran en un rango entre 5.35 y 5.64.

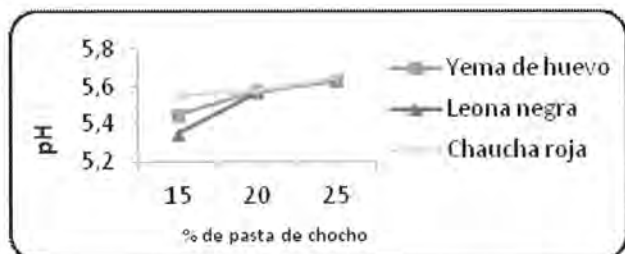


Gráfico 5. pH en tortillas precocidas y enriquecidas.

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

• **Aerobios mesófilos**

En general, todos los tratamientos presentaron baja contaminación microbiana en términos de aerobios mesófilos (rango entre 20 y 38 UFC/g). En el gráfico 6, se observa que los tratamientos: a0b0 (Yema de huevo - 15% pasta de chocho), a0b1 (Yema de huevo - 20% pasta de chocho) y a2b2 (Chaucha roja - 25% pasta de chocho), son los que presentan una menor contaminación microbiana, 26, 20 y 28 UFC/g, respectivamente.



Gráfico 6. Aerobios mesófilos (UFC/g) en tortillas precocidas y enriquecidas.

• **Mohos y Levaduras**

Similarmente, la determinación de mohos y levaduras de los tratamientos planteados presentaron una mínima contaminación (rango entre 46 y 65 UFC/g). En el gráfico 7, se observa que la mejor combinación corresponde al tratamiento a0b1 (Yema de huevo - 20% de pasta chocho), que posee la menor carga microbiana con respecto a mohos y levaduras (46 UFC/g).



Gráfico 7. Mohos y levaduras (UFC/g) en tortillas precocidas y enriquecidas.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS SENSORIAL

Los dos mejores tratamientos determinados mediante el análisis sensorial a todos los tratamientos son: a0b0, (Yema de huevo - 15% pasta de chocho) y a0b1, (Yema de huevo - 20% pasta de chocho); que presentan promedios similares en las características sensoriales (aceptabilidad 4.4 y 4.2, respectivamente). Para la decisión del mejor tratamiento, se consideró cuál de los dos aportaría con un mayor valor proteico, decidiéndose por el tratamiento a0b1, (Yema de huevo - 20% pasta de chocho), que posee mayor concentración de pasta de chocho en relación al otro tratamiento mencionado. Cabe mencionar que la decisión del mejor tratamiento (Yema de huevo - 20% pasta de chocho) se corrobora con los resultados de los análisis microbiológicos.

VIDA ÚTIL, ANÁLISIS PROXIMAL, RENDIMIENTO Y COSTO DEL PRODUCTO EN EL MEJOR TRATAMIENTO.

• Vida útil de tortillas precocidas y enriquecidas (Yema de huevo - 20% pasta de chocho).

Considerando la ecuación del gráfico 8, donde: $r = 0.96$

$$\ln C_0 = 4.102$$

$$K = 2E-6$$

$C = 453$ (UFC/g), valor experimental que se considera como límite máximo de contaminación de Mohos y levaduras para tortillas de papa.

Aplicando la ecuación:

$$t = (\ln C - \ln C_0) / k \quad \text{Ec. (1)}$$

$$t = (6.115 - 4.102) / 2 \times 10^{-6}$$

$$t = 10006946.1 \text{ segundos}$$

$$t = 11.6 \text{ dias.}$$

Es necesario señalar que a los 14 y 18 días de almacenamiento del producto a 4°C, se observaron colonias de hongos (855 UFC/g), lo cual significa que el producto está deteriorado y por ende no es apto para el consumo. Por consiguiente, se suspendió el análisis microbiológico a los 18 días y se consideró el valor de 453 UFC/g a los 11 días, como el límite máximo de contaminación para las tortillas de papa en el presente estudio. Entonces, la vida útil de las tortillas de papa nativa (Yema de huevo) enriquecida con pasta de chocho (20%) es de 11 días. Según Noboa (2005), el tiempo de vida útil para tortillas de papa refrigerada es 10 días aproximadamente, con uso de niveles inferiores de sorbato de potasio (0.06%) en comparación con el 0.2% de sorbato que se utiliza en el presente trabajo. Además, en la elaboración de tortillas de papa nativa (Yema de huevo - 20%) de pasta de chocho está como ingrediente el ácido cítrico, mismo que ayuda a controlar el pH (5.3) y por ende a inhibir el crecimiento microbiano.

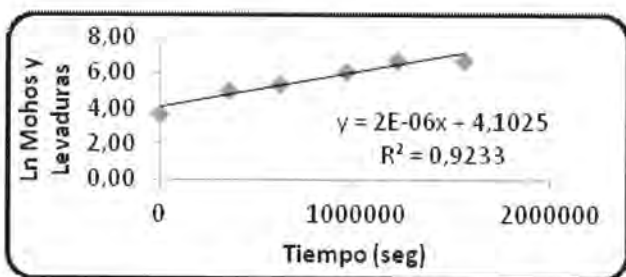


Gráfico 8. Logaritmo natural de recuento de mohos y levaduras (UFC/g) vs tiempo de almacenamiento (segundos), de las tortillas precocidas y enriquecidas.

• Análisis proximal

El análisis proximal se realizó al mejor tratamiento (Yema de huevo - 20% pasta de chocho) y a la muestra patrón (sin adición de pasta de chocho), con la finalidad de verificar si la concentración de pasta de chocho influye en la calidad nutricional de la tortilla. Por lo tanto, una vez efectuado el cálculo correspondiente, el valor energético que aporta el mejor tratamiento (Yema de huevo - 20% pasta de chocho) es de 94.5 Kcal/100g, mientras que la muestra patrón aporta con 87.3 Kcal/100g, siendo positivo el enriquecimiento de la tortilla de papa nativa con pasta de chocho, en términos de proteína (4.19%) y grasa (0.94%), lo cual proporciona más energía (94.5 Kcal), misma que sirve para llevar a cabo las funciones vitales en el organismo.

En el mejor tratamiento y en la muestra patrón el porcentaje de proteína fue de 4.19 y 2.05%, respectivamente; por tanto, es evidente que la adición de pasta de chocho (20%) incrementa el contenido de proteína de la tortilla. - En lo que respecta al contenido de grasa, en el mejor tratamiento y en la muestra patrón, los valores son 0.94 y 0.82%, respectivamente; cabe recalcar que el chocho tiene un alto contenido de aceites (18 - 22%), en el que predominan ácidos grasos no saturados: oleico, linoleico y linolénico, siendo estos de buena calidad e importantes para el organismo humano.

• Rendimiento y Costo del Producto

Con el propósito de implementar la tecnología de elaboración de tortillas precocidas de papa nativa enriquecida con pasta de chocho (Yema de huevo - 20% pasta de chocho), se propuso determinar el rendimiento y el costo.

Se estima que la producción de tortillas precocidas de papa nativa enriquecida con pasta de chocho presenta un rendimiento del 75.7%. - Al valorar el costo de producción se determinó que el producto terminado presenta un costo de 1.47 USD\$ en la presentación de 360 g con una utilidad del 15%. Y finalmente, el costo de 1 kg de tortillas de papa nativa enriquecida con pasta de chocho es de 4.08 USD\$. El precio del producto obtenido es mayor a los costos de productos similares expendidos en el mercado comercial, que oscila entre 2.11 y 2.17 USD\$ los 700 g.

CONCLUSIONES

Se evaluó la calidad nutricional y sensorial de las tortillas de papa nativa (Yema de huevo, Leona negra y Chaucha roja) enriquecidas con pasta de chocho (15, 20 y 25 %), determinándose que la adición de pasta de chocho provocó un mejoramiento del producto, tanto en la calidad nutricional como en la sensorial. Dicha calidad depende del nivel de incorporación de la pasta de chocho, debido a que la misma aporta con un importante porcentaje de proteínas y grasa de buena calidad. En el análisis proximal realizado al mejor tratamiento (Yema de huevo - 20% pasta de chocho) y a la muestra patrón (Yema de huevo) se comprobó que existe un aporte al enriquecimiento de la tortilla a nivel de proteína y grasa, así en el mejor tratamiento se tuvo valores de 4.19 y 0.94%, respectivamente; mientras que en la

muestra patrón se tuvo valores de 2.05 y 0.82%, respectivamente. Además, la evaluación sensorial del mejor tratamiento fue aceptable (color = 4.0, olor = 4.0, sabor = 4.0, textura = 4.1 y aceptabilidad = 4.2).

- Se desarrolló la tecnología de proceso de elaboración de tortillas de papa nativa enriquecidas con pasta de chocho, que consistió en dos partes: la primera, hace referencia a la elaboración de la pasta de chocho (*Lupinus mutabilis*) con la aplicación de las siguientes operaciones: recepción, selección, lavado, desinfección, cocción, escurrido y molido; y la segunda, la elaboración de la tortilla de papa nativa, de acuerdo a las siguientes operaciones: recepción, selección, lavado, pelado, lavado, picado, cocción, escurrido, triturado, mezclado, moldeado, empaquetado y almacenado. En la elaboración se utilizó como ingredientes adicionales: 0.2% de ácido cítrico, 0.2% de sorbato de potasio y 3% de NaCl.

- Se ensayaron diferentes niveles (15, 20 y 25 %) de pasta de chocho en tortillas de papa nativa de tres variedades (Yema de huevo, Leona negra y Chaucha roja), tratamientos que fueron sometidos a análisis físico-químicos, microbiológicos, y sensoriales, concluyéndose que los mejores tratamientos son: a0b0 (Yema de huevo - 15% de pasta de chocho), a0b1 (Yema de huevo - 20% de pasta de chocho) y a2b2 (Chaucha roja - 25% de chocho). De los 3 mejores tratamientos señalados, se seleccionó como mejor tratamiento al a0b1, en base a los mejores promedios de vitamina C (9.51 mg/100g), aerobios mesófilos (20 UFC/g), mohos y levaduras (46 UFC/g) y aceptabilidad (4.2).

- Se determinó que el tiempo de vida útil del mejor tratamiento a0b1 en almacenamiento refrigerado (4°C) fue de 11 días, en base al análisis microbiológico (recuento de mohos y levaduras de 453 UFC/ g), efectuado durante 3 semanas a intervalos de tiempo de 4 días. El tiempo de vida útil del producto se verificó con la aplicación de la ecuación 1, cuyo valor fue de 11.6 días.

- Se estimó que el costo unitario de producción de una bandeja de tortilla precocida de papa nativa (Yema de huevo) enriquecida con pasta de chocho (20%), en una presentación de 360 g es de 1.28 USD\$; y el precio de venta al público de 1.47 USD\$, considerando una utilidad del 15%.

REFERENCIAS

- ACUÑA O., ANGULO D., MONTENEGRO S. y MONTEROS C., 2010. Memorias I Congreso Internacional de Investigación y Desarrollo de Papas Nativas.

- BERNAL J., 2003. Vida de Anaquel y Evaluación Sensorial en tortillas de Maíz (*Zea Mayz*) elaboradas con un conservador y un mejorador. Tesis FCIAL. Ambato.

- BRITO M., 2005. Mejoramiento del valor nutritivo del fideo con incorporación de chocho (*Lupinus mutabilis*). Tesis FCIAL. Ambato.

- CODEX ALIMENTARIUS, Aditivos Alimentarios, Volumen XIV, 1984.

- MELÉNDEZ B., y SANTAMARÍA P., 1987. Fraccionamiento y caracterización de la proteína del chocho (*Lupinus mutabilis*) por solubilidad. Tesis FCIAL. Ambato.

- PAZMIÑO L., 2010. Aplicación de una tecnología de acondicionamiento para la elaboración de papa prefrita congelada tipo bastón. Tesis FCIAL. Ambato.

- QUILCA N., 2007. Caracterización física, morfológica, organoléptica, química y funcional de Papas Nativas para orientar sus usos futuros. Tesis Previa la obtención del título de Ingeniería Agroindustrial. FIQA.

LINK GRAFÍA

- ÁLVAREZ M., y REPO R., Desarrollo de productos de papas nativas, Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. 1999. <http://www.papaslatinas.org/vesp-p58.pdf>

- ARIANSEN J., El Origen de la Tortilla de Papa, Lima - Perú, 2009. <http://historiagastrologia.blogia.com/temas/14-la-papa.php>

- ASHBOLT N.J., W.O.K. Grabow and M. Snozzi (2001). Indicators of microbial water quality. In Fewtrell, L. and Bartram, J. (ed.), Water Quality: Guidelines, Standards and Health. Risk assessment and management for water-related infectious disease. IWA Publishing, London.
www.who.int/entity/water_sanitation_health/dwq/iwac_hap13.
- BONIERBALE M., AMOROS W., SALAS E., BURGOS G., CÁCERES M., 2004. International Potato Center, Valor Añadido y Nutricional de la Papa Nativa.
- CUESTA X., CASTILLO C., y MONTEROS C., 2005. Las papas nativas en el Ecuador, Biodiversidad de las Papas Nativas Ecuatorianas.
<http://www.bvcooperacion.pe/biblioteca/bitstream/123456789/4539/1/BVCI0004278.pdf>
- FALCONÍ C., El chocho contribuye a la soberanía alimentaria, Ecuador 2010,
http://agrytec.com/agricola/index.php?option=com_content&view=article&id=261:el-chocho-contribuye-a-la-soberania-alimentaria-&catid=53:articulos-tecnicos&itemid=28.
- FUENTES C., ANDACHI L., MELÉNDEZ R., PAJARES D., VERA L., VIDAL C., Procesamiento de Productos Agrícolas/Papas Planta de puré instantáneo de papas nativas en Cajamarca, Perú 2009.
- GUION DE PRÁCTICAS., 2008. Microbiología de los Productos Agroalimentarios. Universidad de Almería. Área de Microbiología
<http://www.ual.es/Universidad/Depar/microbiologia/Docencia/Mpaa/Contenidos/Practicas/Cuaderno.doc>
- MARTÍNEZ F., 2009. Caracterización Morfológica e Inventario de Conocimientos Colectivos de Variedades de Papas Nativas (*Solanum tuberosum*.) en la provincia de Chimborazo.
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/337/1/13T0630MARTINEZ%20FREDY.pdf>
- MONTEROS C., CUESTA X., JIMÉNEZ J., LÓPEZ G., Las papas nativas en el Ecuador "Estudios cualitativos de oferta y demanda" Ecuador 2005.
<http://www.bvcooperacion.pe/biblioteca/bitstream/123456789/4539/1/BVCI0004278.pdf>
- MONTEROS C., Papas nativas Ecuatorianas Redescubriendo un tesoro escondido. 2008.
<http://www.PapasnativasEcuatorianasRedescubrimientountesoro>.
- MORALES I., Vida útil de los alimentos, 2009,
<http://www.cita.ucr.ac.cr/Alimentica/EdicionesAnteriores/Volumen%206,2009/Articulo/Vida%20Util.pdf>
- NOBOA M., 2010. Evaluación de Tortillas de papa refrigerada, bajo el efecto de sorbato como conservante y su influencia en la vida útil.
www.cipotato.org/regionquito/presentaciones/microsoft...nova.pdf/.../file
- UNDA J., JIMÉNEZ J., ANDRADE L. y MONTEROS C., 2005. Las papas nativas en el Ecuador, Sondeo de la Oferta de las Papas Nativas en el Ecuador.
<http://www.bvcooperacion.pe/biblioteca/bitstream/123456789/4539/1/BVCI0004278.pdf>
- VILLACRÉS E., QUILCA N., MONTEROS C. y REINOSO I., 2010. Caracterización Física, Nutricional y Funcional de las Papas Nativas.
http://www.quito.cipotato.org/papanat2010/PDFs/Valor%20Nutritivo/6.%20Reinoso_1.pdf
- VILLACRES E., RUBIO A., EGAS L., SEGOVIA G., 2006. Usos Alternativos del chocho
http://www.google.com.ec/search?q=composicion+quimica+del+chocho&hl=es&prmd=ivns&ei=FnscTvS_O8br0gHY5rS3Bw&start=10&sa=N

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO EN MUESTRAS DE AGUA NATURAL, RESIDUAL Y DE CONSUMO POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON TÉCNICA DE VAPOR FRÍO”

CRISTINA ALARCÓN^{1, 2} Y ROMAN RODRÍGUEZ²

¹Laboratorio de Servicios Analíticos HAVOC Cía. Ltda., Calle A, N° G-2 y Calle 1 Coop. de Profesores Municipales, Entrada a Llano Grande, Quito – Ecuador,
email: ccalidad@havoc-lab.com; cris_aq@hotmail.com

²Carrera Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Campus Huachi: Av. Los Chasquis y Río Payamino

Palabras Claves:

Mercurio. Bioacumulación. Validación. Absorción Atómica. Vapor Frío. Matriz Agua. TULAS.

RESUMEN

La contaminación del agua por la incidencia de mercurio tanto a nivel del ambiente general como del ocupacional, ha demostrado la vulnerabilidad del hombre ante el poder tóxico de este metal pesado. El presente estudio tuvo como finalidad describir un procedimiento adecuado y económico para determinar el contenido de mercurio en muestras de agua natural, residual y de consumo, mediante la generación de vapor frío (GVF) y detección por espectroscopía de absorción atómica (EAA). La técnica de flujo continuo fue usada para la introducción de la muestra y los demás reactivos. Con este diseño todo el mercurio es reducido para formar vapor de mercurio elemental usando un reductor. Mediante la curva de calibrado se determinó que la altura de picos máxima se incrementa linealmente con la concentración de mercurio expresada por la ecuación: $y = 7,6337x + 0,0058$; un límite de correlación de $r^2 = 0,9984$, un límite de cuantificación de 0,0140mg/L y límite de detección = 0,0025mg/L. Finalmente se verificó el cumplimiento de los límites máximos permisibles establecidos por la Legislación Ambiental (TULAS)

INTRODUCCIÓN

En la humanidad, a lo largo de la historia, el mercurio ha sido un elemento importante, puesto que posee características especiales que le permiten ser materia prima para muchos procesos industriales, lo que a través del tiempo ha llevado a la alteración de su ciclo normal, encontrándose altas concentraciones del elemento en lugares circunscritos, especialmente en aquellos procesos relacionados con la extracción y

transformación de oro (Sepúlveda et al. 2006).

Todas las formas de mercurio presentes en el medio ambiente son potencialmente tóxicas, el rango de toxicidad varía considerablemente. Alrededor del 80% del vapor de mercurio presente en la atmósfera puede difundirse a través de los pulmones hasta la sangre y luego hasta el cerebro, donde puede causar daños importantes prolongados en el sistema nervioso central y efectos perjudiciales en los sistemas digestivo, respiratorio e inmunitario y en los riñones, donde, su semiperíodo biológico de permanencia dura aproximadamente dos meses, además de provocar daños pulmonares, promueve la pérdida de Ca y Mg, y es perjudicial por absorción cutánea (Español, 2001).

El mercurio y sus interacciones químicas hacen que en la naturaleza se cumpla un ciclo, capaz de formar compuestos orgánicos, donde el óxido de mercurio o sulfuro de mercurio (HgO o HgS) son metilados a metil o dimetil mercurio con la participación de ciertos microorganismos, estos compuestos se caracterizan por ser altamente estables, con niveles de toxicidad superiores a las formas inorgánicas. Debido a éste efecto nocivo, aún de pequeñas concentraciones, resulta indispensable conocer en términos cuantitativos su presencia en el medio ambiente (Saucedo et al, 2007).

Por consiguiente, para validar un método analítico se requiere de ciertas normas, que incluyen buena organización funcional, el suficiente número de analistas capacitados, instalaciones adecuadamente abastecidas

MATERIALES Y MÉTODOS

Alcance de Condiciones Óptimas para el Equipo de Generación-Vapor Frío

Las especificaciones que fueron empleadas para la obtención de las mejores condiciones del rendimiento del equipo de generación de vapor frío, fueron tomadas del Manual de Manejo SHIMADZU GHV-1 y de la sección 3114B sobre la determinación de metales mediante métodos normalizados del APHA. Se estableció en base a estas fuentes bibliográficas algunos factores de estudio como, el agente reductor utilizado y el nivel de presión del gas de arrastre, para lo cual, se prepararon cuatro diferentes concentraciones del agente reductor (NaBH_4) 0.2%, 0.3%, 0.4% y 0.5% y se aplicó tres diferentes presiones del gas de arrastre (Ar) de 32.7psi, 46.4psi y 57.6psi (APHA, 2005; SHIMADZU CORPORATION, 2005).

Método Analítico Empleado para la Determinación de Mercurio

El método analítico empleado para la determinación de mercurio fue en base a métodos normalizados recopilados del EPA en el Método 7470A y en el APHA en la sección 3112B. Los pasos a seguir en los métodos anteriormente mencionados fueron los siguientes (EPA, 1994; APHA, 2005):

Estandarización a Partir de la Solución Patrón

Se elaboraron siete muestras estándar preparadas a partir de la solución patrón de mercurio con una concentración de 1000 mg/L, y se aforó con agua acidificada (HNO_3 1.5%) en un balón volumétrico de 50mL, se presentó entonces una concentración de 10mg/L, de la cual se tomó 5ml que fueron aforados con agua acidificada en un balón de 50mL. Esta última dilución sirvió como base para la preparación de los estándares de calibración, de concentraciones de 0.02mg/L, 0.03mg/L, 0.04mg/L, 0.05mg/L y 0.06mg/L, para lo cual se tomaron 1mL, 1.5mL, 2mL, 2.5mL y 3mL respectivamente, aforándolos a cada uno con agua acidificada en balones volumétricos de 50mL.

A su vez, se tomaron 5mL del estándar de 1mg/L preparado anteriormente, y se colocó en un balón volumétrico de 50mL aforándolo con agua acidificada (HNO_3 1.5%), a partir de esta solución se tomó 5mL, 7.5mL, 10mL, 12.5mL y 15mL para preparar soluciones de 0.001mg/L, 0.0015mg/L, 0.002mg/L, 0.0025mg/L y 0.003mg/L respectivamente, cada volumen tomado se colocó en balones volumétricos

de 500mL y se aforan con agua acidificada (HNO_3 1.5%).

Proceso de concentración al vacío de soluciones a analizar

La técnica de concentración al vacío por arrastre con vapor fue utilizada como una prueba adicional en el pre-tratamiento de las muestras a ser analizadas, principalmente en los estándares de calibración, para generar una validación que se encuentre dentro de los rangos estipulados por el TULAS, en tal sentido, se generó un factor de concentración de 0,05 para comparar las absorbancias de las soluciones resultantes del proceso de concentración con las soluciones elaboradas.

Para la concentración de los estándares de calibración, se agitó vigorosamente cada una de ellas y se trasvasó su contenido (500mL) en un matraz de fondo redondo, que se conectó a un sistema de condensación, a su vez el matraz fue colocado sobre un baño María precalentado a 25°C, se activó el sistema de concentración al abrir el flujo de agua de refrigeración, se reguló la presión de la bomba de vacío a 70 psi, y se ajustó a 45 revoluciones el rotor del equipo, el proceso duró aproximadamente 45 minutos y se obtuvo 25mL de la solución concentrada que fueron aforados en un balón volumétrico previamente rotulado.

Proceso de preparación del material de referencia

Los materiales de referencia empleados presentaron concentraciones determinadas en rangos comprendidos entre 0.0144mg/L y 1mg/L, cada ampolla contenía 20mL de solución y debían ser agitados antes de ser usados. Para la preparación de dichas soluciones se alistaron dos balones aforados de 1000mL y se extrajo 10mL de cada uno de las ampollas, se vertió en cada balón marcado con el respectivo material de referencia, se aforó con agua acidificada (HNO_3 1.5%) y se agitó fuertemente. Los dos materiales de referencia fueron concentrados a 0,28mg/L y se realizó una dilución de 5 para el material de referencia de 0,014mg/L, y una dilución de 25 para el material de referencia de 1mg/L.

Proceso de digestión de las soluciones a analizar

Las muestras de análisis, los estándares de calibración, el material de referencia y el blanco, fueron digeridos del mismo modo para evitar errores de determinación y comprobar el comportamiento real de las soluciones antes mencionadas.

Para lo cual se homogenizó la solución preparada de agua acidificada (HNO₃ 1.5%) agitándola vigorosamente, se tomaron 25mL de la solución con la ayuda de una probeta graduada y se trasvasó a un frasco autoclavable de 100mL, se le rotuló para identificar posteriormente su contenido, ulteriormente se añadió 2.5mL de la solución de HNO₃ al 30%, 2.5mL de la solución de H₂SO₄ al 30% con la ayuda de una micropipeta calibrada de 1 a 5mL, y 2 gotas de KMnO₄ al 5% con la ayuda de una pipeta Pasteur, se esperó durante 30 segundos para desarrollar la determinación de mercurio.

Análisis de las Soluciones obtenidas

Las soluciones digestadas fueron sometidas al proceso de lectura, donde se ubicó en primer lugar el blanco, colocándose el tubo de aspiración en el interior del frasco autoclavable para confirmar que la absorbancia fue de cero, al observar en la pantalla del equipo de absorción atómica que no existió la formación de picos de lectura, mostrándose después de 25 segundos de absorbida la muestras por el equipo de generación de vapor frío, se retiró el tubo de aspiración para ser limpiado con papel toalla, evitándose de esta manera que la solución pueda haberse contaminado después de varias lecturas. Se repitió el proceso con cada una de las soluciones estándar, con los materiales de referencia, con las muestras de agua y las muestras con adición de estándar.

Validación del Método Analítico

La validación del método se realizó según establece la Norma Internacional ISO/IEC 17025, basado en el procedimiento interno del laboratorio (ISO/IEC 17025, 2005). A continuación se describe la determinación de cada parámetro de validación:

Determinación de la Linealidad

La detección de la linealidad del método se realizó mediante la curva de calibración de mercurio; elaborándose a partir de las lecturas del blanco y los estándares de calibración, obteniéndose valores de absorbancia de cada uno de ellos por quintuplicado cada día durante tres días, los resultados de absorbancia se promediaron para poder construir la recta de calibración.

Determinación de la Sensibilidad

Se determinó la sensibilidad de calibrado que es la pendiente de la recta y la sensibilidad analítica que es calculada de la pendiente de la recta para la desviación estándar de la sensibilidad.

Determinación del límite de detección y del límite de cuantificación

Los límites de detección y de cuantificación fueron determinados mediante las ecuaciones 1 y 2 respectivamente.

LÍMITE DE DETECCIÓN:

LÍMITE DE DETECCIÓN:

$$L O D = \frac{S_y T_x}{b_1} * \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{N} + \frac{\bar{X}^2}{\sigma_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}} \quad (1)$$

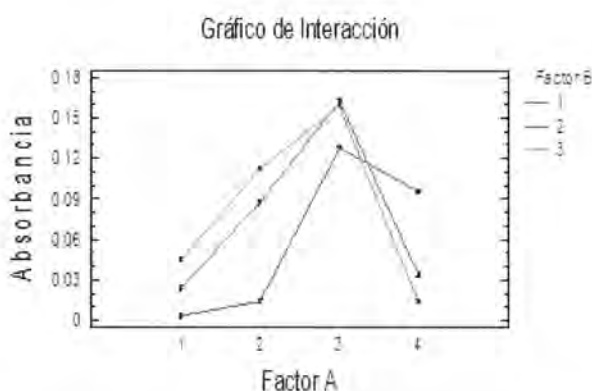
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó la concentración de mercurio en una misma matriz de estudio, con distintas muestras de análisis como agua residual, agua natural y agua de consumo, una vez obtenida la curva de calibración establecida con estándares en concentraciones fijadas, y su posterior comparación con los datos obtenidos del tratamiento del material de referencia se obtuvieron valores de concentración de mercurio en las muestras de análisis con la utilización de adición de estándar en cada una de ellas mediante el empleo de un método específico de análisis para mercurio con técnica de generación de vapor frío en espectroscopía de absorción atómica, lo cual permitió el desarrollo de la validación con la finalidad de emitir datos confiables acerca de los niveles de incidencia de mercurio en este tipo de matriz.

Condiciones de Operación del Generador de Vapor Frío

Tras el análisis de los datos experimentales obtenidos se pudo evidenciar que las mejores condiciones en las que se operó el equipo corresponde a la combinación de una solución de NaBH₄ con una concentración del 0.40% como agente reductor, y un nivel de flujo de presión del gas de arrastre (Ar) de 46.4psi, lo cual registró el mayor valor de absorbancias reportadas con un promedio de 0.162ABS, que expresado en ppm corresponde a una

concentración de 0.018mg/L, y un porcentaje de recuperación promedio del 105.0%. El estudio realizado con el programa estadístico STATGRAPHICS, permitió reconocer que los valores obtenidos en el desarrollo del análisis de ANOVA presentaron gran diferencia significativa con un nivel de confianza del 95%, para lo cual se realizó el estudio de la prueba de Tukey, lo que confirma que el mejor tratamiento en el Factor A es de 0.40% del agente reductor mientras que el Factor B presentó dos tratamientos con mayores posibilidades de ser las mejores respuestas obtenidas la información se presenta en la Grafica 1.



Grafica 1. Comportamiento de la interacción de los Factores de estudio. Elaborado por Alarcón Quinapanta, 2011

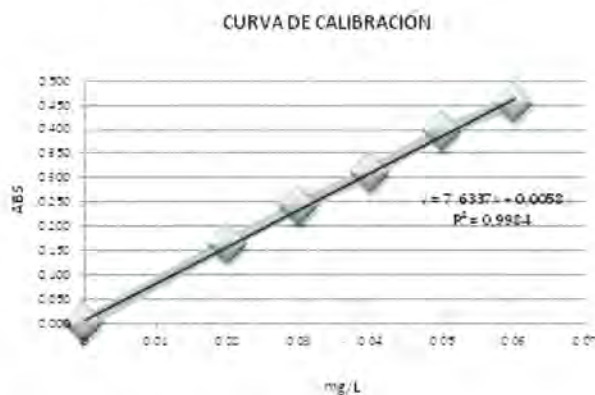
Validación del Método Analítico

Procesos de Elaboración de Soluciones Estándar Según la norma técnica ambiental que se encuentra bajo el amparo de la Ley y el Reglamento de Gestión Ambiental, se han dispuesto los límites permisibles de mercurio, métodos para determinar la presencia de contaminantes en el agua y los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos, con los cuales se ha trabajado en el transcurso de esta investigación, lo que permitió proponer procesos analíticos directos y simulados para elaborar estándares de calibración con concentraciones de mercurio que relacionados entre sí nos permita obtener lecturas de absorbancia similares, tal es el caso de los procesos de la elaboración de soluciones estándar que fueron preparadas directamente en concentraciones de 0.02mg/L, 0.03 mg/L, 0.04 mg/L, 0.05 mg/L y 0.06 mg/L y que poseen una relación

directa con los estándares elaborados en concentraciones de 0.001mg/L, 0.0015mg/L, 0.0020mg/L, 0.025mg/L, 0.030mg/L luego de realizar el proceso de concentración en los que bajo su experimentación y los niveles de lecturas de absorbancia se comprobó que son las adecuadas para bajar la concentración del analito de estudio y así obtener un rango de trabajo aceptable en el laboratorio conforme las especificaciones establecidas por el TULAS.

Determinación de la linealidad

La obtención de la curva de calibración y el análisis de la ecuación de la recta de regresión facultó la descripción del ajuste del modelo lineal y la relación estadísticamente significativa dada entre la absorbancia y la concentración de las soluciones del analito de estudio que pudo ser confirmado con el coeficiente de correlación de 0.9984, lo que significa una garantía de calidad para los resultados emitidos por el laboratorio de ensayos. Este criterio está sustentado en el coeficiente de correlación en laboratorios de análisis, al establecer que no debe ser menor que 0.995. Como se representa en la grafica 2. (Norma INEN ISO/IEC 17025. 2005).



Grafica 2. Curva de calibración del Mercurio Elaborado por Alarcón Quinapanta, 2011

Finalmente, se empleó materia de referencia en rangos comprendidos entre 0,0144mg/L y 1mg/L, con el fin de comprobar que los valores obtenidos están dentro de los límites aceptables certificados. Esto demostró, que el método analítico seleccionado y utilizado fue útil en el desarrollo de la validación. Los materiales de referencia se concentraron a 0,28mg/L y se realizó una dilución de 5 para el material de referencia de 0,014mg/L, y en el del material de referencia de 1mg/L se realizó una dilución de 500, con lo cual se determina que los procedimientos establecidos permiten una recuperación de la concentración del analito de estudio en cada uno de los materiales de referencia confirmándose la exactitud de la técnica empleada.

Determinación del Límite de Confianza

El término "confianza" implica que es posible afirmar con un cierto grado de probabilidad (por lo general del 95%), que el intervalo de confianza si incluye al valor verdadero, por ello ha sido importante estudiar los límites que presentó tanto la ordenada como la pendiente en el análisis de linealidad, para confirmar así la aceptación de los valores obtenidos de la experimentación, de este modo se corroboró que los valores extremos con los que trabaja la investigación se encuentran entre $7.6337 \pm 0.4224 < \mu < 0.0058 \pm 0.0164$, lo cual contempla la inexistencia de errores sistemáticos (Miller & Miller, 2002).

Determinación de la sensibilidad

La sensibilidad de un método analítico es capaz de discernir pequeñas variaciones en la concentración del analito. Por lo tanto, tras el procedimiento utilizado se estipuló que la pendiente de la recta de calibración corresponde a 7.63 lo que representa la medida de la sensibilidad denominada sensibilidad de calibrado y considerada constante en todo el intervalo de linealidad. Por otro lado, la sensibilidad analítica o capacidad discriminante que presentó la investigación fue de 0.001 mg/L, y es calificada como la menor diferencia de concentraciones que puede ponerse de manifiesto correspondiente a un umbral de probabilidad de 0.05.

Determinación del límite de detección y del límite de cuantificación

En la práctica, se ha utilizado los valores de la recta de calibrado para el cálculo de estos límites, en donde 0,0025 mg/L se considera como la cantidad mínima de analito que ha sido detectado en las muestras de análisis, del mismo modo, se puede especificar que el valor del límite de cuantificación teórico fue de 0,01404 mg/L en relación al límite de cuantificación experimental correspondiente a 0,02 mg/L o su equivalente luego del proceso de concentración de 0.001mg/L, que fue corroborado posteriormente con el cálculo de la incertidumbre. Estos valores, son considerados como la mínima cantidad de analito presente en la muestra que ha podido ser cuantificada, bajos las condiciones experimentales descritas, con una adecuada predicción y exactitud.

Precisión

En el tratamiento estadístico se realizó un análisis de varianzas, mediante la prueba de F o del valor estimado de F; los valores obtenidos fueron comparados con el valor de F tabulado perteneciente a 3.89, en un nivel de confianza del 95%; dando como resultado que los valores de F calculados de los estándares y del material de referencia son menores al valor de F tabulado, lo que representa que existe un estimado de precisión admisible. Este resultado indica, que las varianzas no presentan diferencias significativas, y que los resultados de repetibilidad y reproducibilidad se encuentran dentro de los valores aceptados del valor estimado de F Tabulado.

Exactitud

La exactitud experimental también es la considerada la mínima variación de magnitud que puede apreciar un instrumento. Por lo tanto, se determinó la misma, mediante el porcentaje de recuperación de cada estándar de calibración y de los materiales de referencia empleados, que debe estar en un rango entre el 85 – 115%. Los valores obtenidos fueron comparados con el valor de "t" tabulado correspondiente a 2.78, en un nivel de confianza del 95%; lo cual trajo como resultado que los valores de "t" calculados de los estándares y del material de referencia sean menores al valor de t tabulado. Este análisis indica que no se presentan diferencias significativa entre la recuperación media y 100%, por lo que los valores de exactitud son aceptados (Skoog et al, 2005).

Incertidumbre

La Norma INEN ISO/IEC 17025 (2005), en la división de "Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración", pone especial énfasis en la necesidad de estimar la incertidumbre del ensayo, así como en el cálculo de las incertidumbres asociadas con calibraciones internas. La incertidumbre de una medición es una estimación de la parte del resultado completo que caracteriza el intervalo de valores dentro del cual se encuentra el valor verdadero de las cantidades medida.

Los valores de porcentaje de incertidumbre obtenidos para cada concentración analizada se encontraron dentro del alcance establecido por el laboratorio que es del 15% de incertidumbre. Los datos experimentales de incertidumbre obtenidos se hallaron entre el 4.06% y el 14.54%, por lo tanto, los porcentajes de incertidumbre alcanzados son aceptados. Además fue posible verificar que las fuentes de incertidumbre son directamente proporcionales; al estar relacionadas entre el porcentaje de incertidumbre y la concentración del analito de estudio.

Determinación de los Rangos de trabajo

Debido a que el porcentaje de incertidumbre tanto en la concentración de 0.02mg/L como en su equivalente de 0.001mg/L, es del 10.5% se estimó que el rango de trabajo abarca todas las concentraciones de mercurio, que están entre 0.001mg/L a 1mg/L que son los límites requeridos en el laboratorios y establecidos por las leyes ecuatorianas.

Estudio de las Matrices de Análisis con Adición de Estándar

Se realizó el análisis de las matrices de estudio con diferentes tipos de agua: agua residual, natural y de consumo; las muestras fueron proporcionadas por el laboratorio con la codificación respectiva de las mismas. En la matriz se determinó que tanto el agua natural como el agua de consumo no presentaron cambios de absorbancia al ser comparados con el blanco en la lectura inicial, al momento de realizar las lecturas de absorbancia se pudo corroborar que la concentración del analito obtenido fue de 0,001mg/L, que corresponde al valor de la adición de estándar.

Por otro lado, el análisis de matriz de agua residual demostró que la lectura inicial de la muestra únicamente presentó valores de absorbancia en un promedio de 0.112ABS, lo que representó una concentración de 0,001mg/L. Después de adicionar el estándar a la muestra de agua residual se reportó valores promedio de absorbancia de 0.239ABS; equivalente a una concentración de 0,002mg/L; lo que permitió comprobar que el agua residual sometida al análisis presentó una concentración de 0,001mg/L de mercurio total, en tal sentido, se pudo concluir que existió una recuperación aproximada del 100% de la concentración adicionada, además que la muestra de agua residual no presentó interferencias al momento de ser analizada, por consiguiente, se consiguió que el tratamiento de digestión cumpliera con los requisitos para lo cual fue diseñado, además se verificó que el efecto matriz no ocasionara interferencias en el método.

CONCLUSIONES

En la investigación se corrobora que el equipo de generación de vapor frío obtuvo las mejores condiciones de funcionamiento a 46.4psi de flujo de presión de Argón y una concentración del 0.04% de borohidruro de sodio, lográndose un porcentaje de recuperación del 105.0%, valor que está dentro de los rangos establecidos por la norma INEN ISO/IEC 17025 que es de entre el 85% al 115%.

La utilización de un procedimiento de concentración de muestras analizada dentro del método, corroboró tanto la precisión como la exactitud del mismo, así como el cumplimiento de la linealidad en el método analítico empleado en el intervalo de concentraciones utilizadas para su determinación por su elevado valor de coeficiente de correlación que fue de 0.9984, cumpliendo con los fines de validación que debe ser de > 0.95, con lo cual se asegura que el uso del proceso de concentración no afecta la calidad de los resultados.

La investigación muestra resultados obtenidos del límite de detección que corresponde a 0,0025 mg/L y un límite de cuantificación de 0,01404 mg/L. El valor real de cuantificación que dio el equipo que fue de 0,001mg/L, con un porcentaje de incertidumbre que se encuentra dentro del rango establecido en el laboratorio que es el 15%.

El desarrollo del método analítico empleado es considerado útil para la determinación de mercurio en muestras de agua natural, residual y de consumo, ya

que mediante tratamientos estadísticos se pudo comprobar que es reproducible en el cálculo la repetibilidad por varios días, se obtuvieron resultados que al ser evaluados por la prueba de F (comparación de varianzas), no presentan diferencias significativas. Los resultados corroboraron que tanto en las muestras de análisis como en el material de referencia los valores reportados presentaron un nivel de incertidumbre no mayor al 15%, en un nivel de confianza del 95%, lo que determinó el rango de trabajo para Mercurio que van de 0,001mg/L a 1mg/L, proporcionándose un servicio a la comunidad a partir del cumplimiento de los límites máximos permisibles estipulados por el TULAS, y confirmándose la validez del método empleado al haber obtenido valores certificados por el material de referencia.

El porcentaje de recuperación esperado de acuerdo con la experimentación realizada se encontró entre 85 y el 115%, con un error relativo de $\pm 15\%$ en cada uno de los tratamientos realizados dentro del rango establecido, ninguno es mayor a 110% o menor de 90% en cada una de las concentraciones, por lo tanto se establece que el método empleado es exacto.

AGRADECIMIENTOS

Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
Laboratorio de Servicios Analíticos HAVOC Cía. Ltda.

REFERENCIAS

APHA. 2005. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales, 21av Edición, editorial Díaz de Santos, Madrid - España, Método 3112 B y Método 3114 B.

EPA. 1994, Method 7470A. Mercury in Liquid Waste (Manual Cold-Vapor Technique).6pgs.

ESPAÑOL, Santiago. 2011. Toxicología del Mercurio. Actuaciones Preventivas en Sanidad Laboral y Ambiental. Jornada Internacional por el Impacto Ambiental del Mercurio Utilizado por la Minería Aurífera artesanal en Iberoamérica. 66pgs.

MILLER James & MILLER Jane. 2002. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Editorial Prentice Hall. 296pgs.

Norma INEN ISO/IEC 17025. 2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Selección de Métodos. 37pgs.

SAUCEDO, Bárbara; RODRÍGUEZ, Ana; ALVAREZ, Odalys; RABÍ, Leila; 2007, Determinación de Metales Pesados en un Suplemento Nutricional de Origen Natural con Propiedades Antioxidantes. Latin American Journal of Pharmacy. Lat. Am. J. Pharm. 26 (5): 760 pgs.

SEPÚLVEDA, Luz Elena; AGUDELO, Luz Marina y ARENGAS Ángel Isdrúval. 2006. El mercurio, sus implicaciones en la salud y en el ambiente. Documental. 9pgs.

SHIMADZU CORPORATION. 2005. Intruccion Manual Hidride Vapor Generator. HVG-1. 25pgs.

SKOOG, Douglas A.; WEST, Donald M. y HOLLER, F, James. 2005. Fundamentos de Química analítica. Octava edición. International Thomson Editors, S.A. 1172pgs

COMPARACIÓN DE LAS MEZCLAS DE HARINA DE TRIGO (*Triticum spp*) Y CHOCHO (*Lupinus mutabilis*) EN LA EVALUACIÓN SENSORIAL DE PASTAS

Fernanda Pepe, César German, Mario Álvarez y Mónica Silva

Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato.

RESUMEN

En el presente estudio tiene como propósito estudiar los parámetros físico- químico y sensorial de las pastas elaboradas con sustituciones parciales de la harina de trigo por harina de chocho, con la finalidad de mejorar la calidad nutricional de los fideos. Una tecnología adecuada de fideos enriquecidos con proteína y fibra de chocho permitirá dar un valor agregado al cultivo del chocho. Se aplicó un diseño experimental a*b. Siendo los factores de estudio: tipo de harina, con cáscara (a0) y sin cáscara (a1), con sus diferentes porcentajes de sustitución 0% (b0), 15% (b1), 20% (b2), 25% (b3) y 30% (b4). Se elaboraron 10 diferentes formulaciones de pastas alimenticias y se realizaron las siguientes pruebas experimentales: tiempo de cocción de la pasta en minutos, % del grado de desintegración, % hinchamiento, evaluación sensorial. Al final de la investigación se determinó como el mejor tratamiento a la mezcla con sustitución del 20% de harina de chocho con cáscara, ya que presenta mejor tiempo de cocción, mayor porcentaje de hinchamiento, menor grado de desintegración, mayor aceptabilidad.

INTRODUCCIÓN

Reciben el nombre de pastas alimenticias aquellos productos obtenidos del amasado de la harina o sémola de trigo con agua, en frío o en caliente, con o sin la adición de otros ingredientes como huevos, glutina, azafrán para colorearlas y aromatizarlas, o los sustitutivos de éstos permitidos por las disposiciones sanitarias. Trefilada o estirada con sacabocados, o extendida a mano, adquiere las más variadas formas (Nogara, 1964).

El Ecuador importa al año 400.000 toneladas de trigo. De ese monto, un 10 por ciento se dirige hacia la industria de los fideos y pastas. El trigo es el principal cereal demandado por la industria molinera en el Ecuador. Las importaciones abastecen el 96% de la demanda nacional, pues la producción interna tan solo logra cubrir el 4% del requerimiento total (Rodríguez, 2010).

El chocho, *Lupinus mutabilis*, es una leguminosa andina, cuya importancia no solo radica en la capacidad que tienen sus raíces para fijar nitrógeno al suelo sino también por su elevado contenido de proteína, minerales y vitaminas, que es de gran utilidad para mejorar la nutrición de la población ecuatoriana (Romero, et al., 1998).

El Ecuador es un país en vías de desarrollo al mismo tiempo que somos productores agrícolas y cultivamos una infinidad de productos que son muy ricos y nutritivos gracias a factores como clima y suelo. Es importante crear la pequeña industria y fomentar la exportación de productos no tradicionales y los mecanismos que se tiene que para producir y enviar estos a mercados externos, estimulando este sector mediante el chocho podemos alcanzar una imagen de nuestros productos tanto en calidad y en valor nutricional, debido a esto podremos internacionalizarlos a precios convenientes y siendo competitivos con muchos otros mercados (JMF, 2009).

Las cualidades plásticas de las harinas están ligadas básicamente a la reología de la masa y se cuantifican mediante el farinógrafo. Así mismo nuevas herramientas como el Mixolab, permiten caracterizar el comportamiento reológico de una masa sometida a amasado y temperatura, por lo cual se busca la adaptación de las harinas en función de su uso final; siendo hoy en día, los métodos más utilizados para estudiar la calidad de harinas (Chopin, 2008).

OBJETIVOS

Objetivo general

- Comparar las mezclas de harina de trigo (*Triticum spp*) y chocho (*Lupinus mutabilis*) en la evaluación sensorial de pastas.

Objetivo específico

- Elaborar dos tipos de harina de chocho (*Lupinus mutabilis*) con y sin cáscara, proveniente de la Parroquia Totoras de la Provincia de Tungurahua para su utilización en la producción de pastas.
- Producir pastas alimenticias con sustitución parcial de la harina de trigo por harina de chocho.
- Determinar el mejor tratamiento para la elaboración de pasta con harina de chocho mediante una evaluación sensorial y la calidad de la pasta.
- Establecer la calidad reológica en base al MIXOLAB en la mezcla de harina de trigo con harina de chocho del mejor tratamiento para pastas.
- Realizar un análisis bromatológico, de minerales, aminoácidos y microbiológicos en la pasta del mejor tratamiento.
- Determinar la dureza de pasta elaborada con el mejor tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

La materia prima que se utilizó es el chocho (*Lupinus mutabilis*) proveniente del Cantón Ambato, parroquia Totoras. Se dividió en dos partes con la finalidad de obtener harina de chocho con cáscara y sin cáscara, y la harina de trigo importado utilizado fue el obtenido de Industrias Catedral S.A

Equipos

Balanza electrónica, Estufa para secado, Molino, Baño termostático, Equipo Mixolab, Autoclave, Incubadoras, Licuadora, T e r m ó m e t r o , Computador, Balanza Infra rojo, pH metro

Materiales

Cajas petri, Erlenmeyer de 100 ml, Matraz aforado de 10 ml, Pipetas, Vasos de precipitación, Probeta de 1000 ml

Utensillos

Ollas, Cucharas, Cocina eléctrica, Cronómetro, Cernidor, Cuchillos, Espátula, Bandejas, Tamices

Reactivos

Fenolftaleína, Lugol, Agar PCA, Agar PDA, Agar para Coliformes totales.

Métodos

Preparación de la harina de chocho

Se realizó la recepción del chocho lavado que fue adquirido de las microempresas productoras de chocho lavado de la Parroquia Totoras, luego se procede a la clasificación para eliminar las impurezas. Para obtener harina de chocho sin cascara se procedió a retirar de las semillas la cubierta en cambio en las harinas con cascara no se pelo las semillas. Luego a los dos tipos de chocho fueron lavados y llevados a una pasteurización en agua hirviendo por 30 minutos. Los granos pasteurizados fueron enfriados y llevados a un secador de bandejas a una temperatura de 50 °C, hasta humedades inferiores de 9%. Los granos fueron llevados a un molino de piedra hasta obtener harina. Las harinas fueron tamizadas a través de una malla de 80 mesh hasta obtener harinas adecuadas para pastas.

Elaboración de Pastas alimenticias

Las harinas para pastas fueron elaboradas remplazando la harina de trigo importado por harina de chocho con cascara y sin cascara en proporciones de 0, 15, 20, 25 y 30% (p/p). Utilizando un diseño AXB. Método resumido de la elaboración de pastas. Los análisis que se realizaron a las pastas fueron los siguientes:

Tiempo de cocción, Porcentaje de hinchamiento y grado de desintegración, acorde al método descrito por Arqueros, 2009.

La aceptación de las pastas cocidas fueron evaluadas por un panel de 15 catadores semi-entrenados, los atributos fueron: color, firmeza, apelmazamiento, pegajosidad y aceptabilidad, utilizando una hoja de cata que contenida en una escala hedónica estructurada de 1 a 5 puntos. De igual manera, para seleccionar el mejor tratamiento se utilizó un diseño experimental de bloques completos.

En la mejor mezcla de harina de trigo importado con harina de chocho fue evaluado su calidad mediante análisis en Mixolab System CHOPIN, obteniéndose los siguientes índices: índice de amasado, fuerza del gluten, viscosidad y amilasas, retrogradación. Se determinó en el fideo dureza, método brookfield, microbiológico método de Frazier, 1972 y bromatológicos método AOAC, 2002.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis bromatológico de las harinas

Las harinas obtenidas tuvieron un rendimiento de 97,71% y 73,37% en base a sólidos secos en el chocho con cascara y chocho sin cáscara respectivamente. El rendimiento fue menor en chocho sin cáscara debido a que se retira la cubierta de la semilla.

La composición proximal de las harinas se indica en la Tabla 1, en él se observa que las harinas de chocho sin cáscara posee 60.53% de proteína en base seca, de igual manera en la harina de chocho sin cáscara tiene 53.80% de proteína, estos valores son mayores que la harina de trigo que tiene 15,33 %. La harina obtenida del chocho pelado presenta mayor contenido de proteína, pero menor contenido de fibra, con 4.07% y la harina de chocho con cáscara presenta mayor contenido de fibra, 5.47%, cantidades superiores a la harina de trigo que tiene 0.57%. Mientras mayor contenido de fibra tenga un alimento favorece a una mejor digestión.

Tiempo de Cocción

Es el tiempo necesario para que el nervio de la zona central del fideo desaparezca durante la cocción, se dice que en ese momento el almidón se ha gelatinizado en su totalidad.

En la tabla 2 se reportan los tiempos de cocción de las 10 pastas, 5 tratamientos a0b1, a0b2, a0b3, a0b4, a1b1 son estadísticamente iguales ($\alpha \leq 0,05$) con respecto a los tiempos de cocción, 10.73 hasta 12.19 minutos; al comparar estos valores con los tiempos de cocción presentados por los fideos elaborados solo con trigo importados que tiene 14.83 minutos, debemos destacar que los tratamientos con sustitución de harina de chocho tienen menor tiempo de cocción y esto se debe a que para obtener harina los chochos son cocinados.

Porcentaje de hinchamiento

El porcentaje de hinchamiento se relaciona con la capacidad de absorción de agua de cada almidón y que los almidones/fécula nativos son insolubles en agua por debajo de su temperatura de gelatinización. Cuando estos gránulos son alentados progresivamente en agua a temperaturas más altas, se alcanza un punto donde comienza a hincharse irreversiblemente. (De Bernardi, L., 2010).

En la tabla 3 se presentan los resultados del porcentaje de hinchamiento de los 10 tratamientos. Sólo el tratamiento a1b1, difieren estadísticamente de las restantes y se hinchan menos, 114% de hinchamiento. Las pastas elaboradas con trigo importado (tratamiento a0b0 y b1a0) tienen iguales valores de hinchamiento con las 7 restantes, que son elaboradas con chocho con cáscara y chocho sin cascara. Los valores van desde 133 a 184%

Grado de desintegración

En la determinación del grado de desintegración, se indica en la tabla 4, en ella se ve enmarcada la tendencia que a mayor porcentaje de sustitución de la harina de trigo importado por las harinas de chocho en la elaboración de pastas, el porcentaje de sólidos en el agua de cocción y en el agua de lavado es mayor.

Se observa que los tratamientos que tienen solo trigo importado se desintegran menos durante la cocción, esto es a0b0 y b1a0, tienen valores de 4,44 y 5,81 respectivamente; luego es seguido de a0b1 y a1b1, con 7,06 y 6,84% respectivamente, aspecto que es considerado como positivo si se toma en cuenta que las pérdidas por cocción de las pastas deben ser inferiores al 9%, según lo planteado por (Hoseney, 1991) puesto que valores superiores a 9%, indica que resulta indeseable en la fabricación de pastas alimenticias.

Análisis Sensorial de Pastas Cocidas

La evaluación sensorial se realizó con los diez tratamientos para determinar el grado de aceptación de las pastas. En la tabla 5 se registran los valores de las respuestas sensoriales promedios obtenidas de la evaluación de aceptabilidad. En ella se observa que en color las mejores pastas son: a0b1 y a0b2. En pegajosidad, apelmazamiento, firmeza todas las pastas son estadísticamente iguales y en aceptabilidad las mejores son a1b0, a0b1 y a0b2.

Caracterización farinográfico y Mixolab de la mezcla de harina del mejor tratamiento.

Mixolab

En la tabla 6 se encuentran los valores obtenidos del análisis reológico de las harinas de trigo importado (a0b0) y de la mejor mezcla de harina (a0b2), encontrándose que no existe diferencia estadística ($\alpha = 0,05$) en: el índice de amasado, índice de fuerza de gluten, índice de viscosidad del almidón, índice de resistencia de la amilasa e índice de retrogradación del almidón. Por lo que se debe destacar que la mezcla (80% de harina de trigo importado+20% de harina de chocho con cáscara) es apta para la elaboración de pastas. Sin embargos sólo difieren en el índice de absorción de agua, esto se debe que la mezcla de harinas contiene harina de chocho con cáscara con un considerable contenido de fibra (5,47%) a diferencia de que la harina de trigo que tiene un porcentaje menor (0,57%).

Farinografía

En la tabla 7 se encuentran los valores de farinografía de la harina de trigo importado y la mezcla de harina de trigo importado con harina de chocho con cáscara (a0b2), se observa que existen igualdad estadísticamente ($\alpha = 0,05$) en la hidratación, tiempo de desarrollo, debilitamiento de la masa. Difiriendo en la estabilidad de la masa; la mezcla de harinas tiene 11.5 de estabilidad y en el trigo importado 17.5, lo cual nos indica que la harina de trigo importado es más estable en el tiempo.

Dureza del mejor tratamiento

La dureza determinada en el texturómetro, está relacionada con la definición sensorial, como la máxima fuerza requerida para comprimir un alimento entre las muelas. En la tabla 8, se puede apreciar los valores de dureza, deformación según dureza y fuerza adhesividad, observando que no existe diferencia ($\alpha = 0,05$) entre la pasta elaborada con 100% harina de trigo y la pastas elaboradas con 80% de harina de trigo y 20%, lo que indica que ambas pastas soportan igual fuerza antes de romperse.

Análisis bromatológico

En la tabla 9 se indica la composición bromatológica de los fideos elaborados con las harinas seleccionadas como el mejor tratamiento en la que se incluye también la pasta elaborada con 100% de harina de trigo importada, las composición es la siguiente: proteína(15,33%), fibra (1,54%), grasa (0,57%) y cenizas (0,73%), lo cual al comparar con la pasta elaborada con el 80% de harina de trigo + 20% de harina de chocho con cáscara, esta poseen valores altos en lo que concierne a proteína (22,56%), tiene un 7,2% de proteína que la pasta de solo trigo importado. Mientras más proteína tiene un alimento de mejor calidad es; así también otro de los factores importantes que hay que destacar es el contenido de fibra en 1,27%, debido a que la pasta tiene harina con chocho con cáscara.

Análisis de Minerales

El análisis de minerales presentes en los dos tipos de pastas elaboradas se presenta en la tabla 10. De estos valores son de suma importancia las pastas que contienen harina de chocho, que tiene 0,17 % de calcio, el cual supera a la pasta elaborada solamente con harina de trigo, que posee 0,02%; lo mismo se observa en el contenido de hierro en donde la pasta con harina de chocho supera en 101 ppm a la pasta elaborada con harina de trigo. La pasta con chocho es un alimento importante para personas de la tercera edad quienes necesitan mayores consumos de calcio y hierro.

Análisis de Aminoácidos

En la tabla 11 se presentan los valores de aminoácidos comparados con el patrón del Institute of Medicine, National Academy of Science para niños >1 y adultos, del 2002. En la tabla mencionada se observa que en la pasta elaborada con el 100% de harina de trigo, en su composición presenta tres aminoácidos deficitarios, los cuales son lisina, treonina y triptófano, que son de gran importancia para el ser humano. Al sustituir la harina de chocho en la elaboración de pastas se complementa la presencia de treonina y triptófano. Lisina sigue como deficitario sin embargo ha subido en un 49.02% más que la que tiene la pasta elaborada solo con harina de trigo importado.

CONCLUSIONES:

- La elaboración de los dos tipos de harina consiste en operaciones como: selección, lavado, pesado, cortado, pelado, cocción, escurrido, secado durante 48 horas, molienda, tamizado, clasificación y empaque en fundas de polietileno. Para el caso de la harina de chocho con cáscara se omite el proceso de pelado. Es así que se elaboró estos dos tipos de harinas, con lo cual se pudo sustituir los porcentajes en la harina de trigo para la elaboración de pastas.

- Se produjeron pastas alimenticias con sustitución parcial de harina de chocho con cáscara y sin cáscara, para lo cual se utilizó un diseño a* b en donde el factor a fueron los dos tipos de harina y el factor b los diferentes porcentajes de sustitución (0, 15, 20, 25 y 30%). Las pastas elaboradas fueron sometidas a pruebas de cocción y evaluación sensorial; esto para determinar la calidad culinaria y sensorial de las pastas con la finalidad de que sea aceptado por el consumidor.

- De acuerdo a las pruebas de cocción como tiempo de cocción, porcentaje de hinchamiento y grado de desintegración, a las que fueron sometidas las pastas. Se determinó como el mejor tratamiento (a0b2), puesto que presenta mejor tiempo de cocción, mayor porcentaje de hinchamiento, y aceptable grado de desintegración, puesto que es un poco alto, esto debido a la cantidad de fibra.

- Se comparó las mezclas de harina de trigo y chocho mediante la evaluación sensorial de Pastas, para lo cual se utilizó 15 catadores, en donde se establece como mejor tratamiento a0b2 (Harina de chocho con cáscara al 20% de sustitución) por presentar mayor promedio de aceptabilidad (3,33), mayor apelmazamiento (2,56) menor pegajosidad (3,23) y mayor firmeza (3,23); en comparación con el tratamiento a0b0 (harina de trigo importado 100).

- Se determinó el comportamiento reológico de la harina de trigo importado, así como también a la mezcla de harina de trigo importado con sustitución de harina de chocho con cáscara (80% y 20%), cuyos datos se obtuvieron utilizando el equipo Mixolabprofiler, que indican que son estadísticamente iguales.

- Se realizó el análisis bromatológico al mejor tratamiento (Harina de trigo importado 80% + Harina de chocho con cáscara 20%) presenta los siguientes parámetros físico – químicos: humedad de 9,41, proteína 22,56, cenizas 1,4, fibra 2,81, carbohidratos 69,94, por lo que se deduce que los requerimientos establecidos para pastas (Norma INEN 1375). De igual manera se realizó el análisis de minerales indicando así que la pasta elaborada es rica en calcio, magnesio, sodio, hierro, manganeso y zinc. Al adicionar harina de chocho con cáscara en la elaboración de pastas se minimizó la cantidad de deficiencia de aminoácidos como treonina y triptófano que se encuentran como deficitarios en las pastas

elaboradas solamente con harina de trigo, así también se aumentó un 49% de lisina, con respecto a la que contiene la harina de trigo importado. A sí mismo se analizó la calidad microbiológica de las pastas demostrando así que también se encuentra dentro de las Normas establecidas para bacterias, mohos y levaduras, Coliformes.

- Se determinó la textura de la pasta elaborada con 100% Harina de trigo y con el mejor tratamiento (80% harina de trigo + harina de chocho con cáscara al 20% de sustitución) mediante el uso del Texturómetro CT3 marca Brookfield, sabiendo que la misma (textura) tiene que ver con el grado de dureza que presenta un alimento; se corroboró que la dureza, deformación según dureza (mm), Fuerza de adhesividad (gr) es igual estadísticamente en los dos tipos de pastas que fueron analizadas, demostrando así que la pasta enriquecida con harina de chocho cumple con todos los requisitos necesarios para llegar hasta el consumidor, ya que sus características no se alteran pero se mejora en calidad nutricional que es de suma importancia.

RECOMENDACIONES:

- Se debe utilizar un método adecuado para la elaboración de harina de chocho puesto que el proceso de pelado, molienda y tamizado produce un mayor porcentaje de pérdida en cuanto a rendimiento en la harina de chocho sin cáscara por lo que sería recomendable que se utilice harina de chocho con cáscara para enriquecimiento de las pastas.

- Elaborar pastas alimenticias con sustituciones mucho más altas del 30% de sustitución de harina de chocho con cáscara y la adición de aditivos, puesto que a mayor porcentaje de sustitución, mayor será el porcentaje de proteína y fibra presentes en las pastas alimenticias, lo cual beneficiará al consumidor.

- Otra modificación que puede ser tomada en cuenta es lo que se refiere a la textura, en donde la adición de gelificantes como las gomas de alimentos, los alginatos y las féculas de patata, son aditivos que podrían desarrollar mejores resultados en lo que a la textura de la pasta se refiere.

- En base a lo mencionado por los catadores, se podría analizar algún aditamento que mejore el color del fideo, como por ejemplo la adición de "kansui" (mezcla de carbonato de sodio y carbonato de potasio con fosfato de sodio al 10%) éste le otorga al producto un color amarillo brillante, ya que a pesar de

que siempre lo recomendable es la obtención de un producto con el menor número de aditivos químicos, también es cierto que la presentación del producto incide en la promoción y marketing del mismo, debido a que el consumidor prefiere aquello que es calificado como muy bueno por sus ojos, por lo que se observa no solo recomendable sino necesario el uso de estos aditivos.

BIBLIOGRAFÍA:

- Nogara, S 1964. Proceso de elaboración de pastas, fideos y macarrones. Barcelona Tercera Edición. 140 Pág.
- Rodríguez, C 2010. Análisis estadístico de la producción y el consumo de trigo en el Ecuador. Fecha de Consulta 10/06/2011 Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/2138/1/4198.pdf>
- Romero, P, Ulloa, C 1998. Tesis para la Obtención del título de Ingeniera en Alimentos en La Universidad Técnica de Ambato, Caracterización de leche de chocho (*lupinus mutabilis*) y su uso en yogurt. 87 Pág. y anexos
- JMF 2009 Cultivo de Chocho en el Ecuador. Disponible en: <http://www.hoy.com.ec/noticias-ecuador/cultivo-de-chochos-cosecha-buena-ganancia-380134.html> Fecha de consulta:05/06/2011
- Chopin Technologies Mixolab "Manual de empleo" 2008. Applications Handbook: Rheological and Enzymatic Analysis. Villinueva la Garenne-Francia 65 Pág.
- Arqueros, V. 2009. Como optimizar el control de calidad de pastas: materias primas y producto terminado. GRANOTEC Argentina.
- Frazier, W 1972. Microbiología de los alimentos Cuarta Edición Española Editorial Acribia S.A Zaragoza –España. 671 Pág.
- AOAC. Methods of Analysis 2002. Washington. Official Methods of the Association of Analytical Chemists. Thirteenth. Edition 10.
- De Bernardi L, 2010 Fécula de Mandioca, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Argentina. Disponible en: <http://webcache.googleusercontent.com>. Fecha de consulta 17/11/2011.
- Hosney, C (1991) Principios de Ciencia y Tecnología de los Cereales. Acribia. Zaragoza, España. pp. 269-274. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-18442003000700004&script=sci_arttext Fecha de consulta:17/11/2011.

Tabla 1- Análisis Físico -Químicos de los dos tipos de Harina de Chocho.

| | Harina de chocho sin cáscara | Harina de chocho con cáscara | Harina de trigo |
|---------------|------------------------------|------------------------------|-----------------|
| Humedad | 6,72 | 8,03 | 12,08 |
| Grasa | 18,64 | 16,34 | 1,54 |
| Proteína | 60,53 | 53,80 | 15,33 |
| Cenizas | 3,11 | 2,57 | 0,73 |
| Fibra | 4,07 | 5,47 | 0,57 |
| Carbohidratos | 13,65 | 21,82 | 81,83 |
| Kcal/ 100 gr. | 464,48 | 449,54 | 402,50 |

Tabla 2- Tiempos de cocción de la Pasta (min)

| Tratamientos | Tiempo (min) | | Promedio | |
|--------------|--------------|-------|----------|----|
| | R1 | R2 | | |
| a0b0 | 14,27 | 14,42 | 14,35 | c |
| a0b1 | 12,22 | 12,15 | 12,19 | ab |
| a0b2 | 11,47 | 10,18 | 10,83 | a |
| a0b3 | 10,18 | 11,28 | 10,73 | a |
| a0b4 | 12,17 | 11,32 | 11,75 | ab |
| a1b0 | 15,22 | 15,42 | 15,32 | c |
| a1b1 | 11,22 | 12,33 | 11,78 | ab |
| a1b2 | 13,25 | 13,42 | 13,34 | bc |
| a1b3 | 14,32 | 14,49 | 14,41 | c |
| a1b4 | 14,53 | 15,25 | 14,89 | c |

Tabla 3 - % de Hinchamiento de los diferentes tratamientos.

| Tratamiento | % de Hinchamiento | | |
|-------------|-------------------|-----|----------|
| | R1 | R2 | Promedio |
| a0b0 | 162 | 166 | 164 ab |
| a0b1 | 120 | 150 | 135 ab |
| a0b2 | 110 | 166 | 138 ab |
| a0b3 | 154 | 148 | 151 ab |
| a0b4 | 138 | 132 | 135 ab |
| a1b0 | 194 | 174 | 184 a |
| a1b1 | 106 | 122 | 114 b |
| a1b2 | 144 | 140 | 142 ab |
| a1b3 | 110 | 120 | 115 b |
| a1b4 | 126 | 140 | 133 ab |

| Tratamientos | R1 | R2 | Promedio |
|--------------|-------|-------|-----------|
| a0b0 | 4,54 | 4,34 | 4,44 a |
| a0b1 | 6,45 | 7,67 | 7,06 ab |
| a0b2 | 8,34 | 8,74 | 8,54 abc |
| a0b3 | 7,42 | 9,02 | 8,22 abc |
| a0b4 | 11,77 | 9,53 | 10,65 bcd |
| a1b0 | 6,30 | 5,33 | 5,81 a |
| a1b1 | 6,25 | 7,43 | 6,84 ab |
| a1b2 | 10,00 | 12,86 | 11,43 cd |
| a1b3 | 11,38 | 12,72 | 12,05 cd |
| a1b4 | 12,97 | 13,12 | 13,05 d |

Tabla 5- Análisis sensorial de las pastas con mezclas de harina de chocho.

| Prueba Sensorial | T1 a0b0 | T2 a0b1 | T3 a0b2 | T4 a0b3 | T5 a0b4 | T6 a1b0 | T7 a1b1 | T8 a1b2 | T9 a1b3 | T10 a1b4 |
|------------------|----------|---------|---------|-----------|---------|---------|----------|---------|----------|----------|
| Color | 3,95 a | 3,75 ab | 3,63 ab | 3,35 abcd | 2,90 e | 3,88 ab | 3,10 bcd | 2,75 c | 3,10 ecd | 3,66 abc |
| Pegajosidad | 3,33 a | 3,23 a | 3,33 a | 2,82 a | 2,88 a | 2,88 a | 3,28 a | 3,23 a | 3,2 a | 3,40 a |
| Apelmazamiento | 2,88 a | 3,23 a | 2,66 a | 2,90 a | 2,40 a | 3,10 a | 2,93 a | 2,75 a | 2,65 a | 2,83 a |
| Firmeza | 3,33 a | 3,23 a | 3,33 a | 2,8 a | 2,88 a | 2,88 a | 3,28 a | 3,23 a | 3,2 a | 3,1 a |
| Aceptabilidad | 2,88 abc | 3,3 acd | 3,33 ab | 2,8 bc | 2,53 c | 3,6 a | 2,88 abc | 2,7 bc | 2,63 bc | 3,1 abc |

Tabla 6. Análisis de Mixolab en la mezcla de harina de trigo y harina de chocho con cáscara.

| | Trigo Importado | | | Mezcla harina de chocho y de trigo | | |
|--------------------------------------|-----------------|----|----------|------------------------------------|----|----------|
| | R1 | R2 | Promedio | R1 | R2 | Promedio |
| Índ. de absorción de agua | 7 | 7 | 7 a | 9 | 9 | 9 b |
| Índ. de amasado | 4 | 5 | 4,5 a | 5 | 4 | 4,5 a |
| Índ. de fuerza de gluten | 3 | 4 | 3,5 a | 9 | 9 | 9 a |
| Índ. de viscosidad de gel de almidón | 2 | 3 | 2,5 a | 2 | 2 | 2 a |
| Índ. de resistencia de la amilasa | 2 | 2 | 2 a | 2 | 1 | 1,5 a |
| Índ. de retrogradación del almidón | 2 | 2 | 2 a | 5 | 4 | 4,5 a |



Tabla 7- Análisis de Farinografía en la mezcla de harina de trigo y harina de chocho con cáscara (mejor mezcla).

| | Trigo Importado | | | Mezcla harina de chocho y de trigo | | |
|--------------------------------|-----------------|------|----------|------------------------------------|------|----------|
| | R1 | R2 | Promedio | R1 | R2 | Promedio |
| Hidratación (%) | 60,2 | 60,7 | 60,45 a | 67,6 | 66,3 | 66,95 a |
| Tiempo de desarrollo (min.) | 4,5 | 4,5 | 4,5 a | 5,5 | 4,5 | 5 a |
| Estabilidad de la masa (min.) | 18 | 17 | 17,5 a | 12 | 11 | 11,5 b |
| Debilitamiento de la masa (UF) | 35 | 36 | 35,5 a | 49 | 40 | 44,5 a |

Tabla 8. Determinación de dureza del Fideo con harina de chocho y harina de trigo.

| | Mejor tratamiento | | | Con 100% Harina de Trigo | | |
|-------------------------------|-------------------|-----|----------|--------------------------|------|----------|
| | R1 | R2 | Promedio | R1 | R2 | Promedio |
| Dureza (gr) | 178 | 236 | 207 a | 399 | 582 | 490,5 a |
| Deformación según dureza (mm) | 6,76 | 4,2 | 6,48 a | 2,6 | 1,17 | 1,885 a |
| Fuerza adhesividad (gr) | 0 | 1 | 0,5 a | 3 | 2 | 2,5 a |

Tabla 9- Análisis Bromatológico de las pastas elaboradas con sustitución de Harina de chocho con cáscara.

| | Humedad | Cenizas | Grasa | Proteína | Fibra | Carbohidratos |
|----------------------------|---------|---------|-------|----------|-------|---------------|
| | % | % | % | % | % | % |
| Pasta con harina de chocho | 9,41 | 1,46 | 3,20 | 22,56 | 2,81 | 69,94 |
| Pasta solo harina de trigo | 9,69 | 0,73 | 0,57 | 15,33 | 1,54 | 81,84 |

Tabla 10- Análisis de minerales en base seca de las pastas con sustitución de Harina de chocho con cáscara

| | Ca | P | Mg | K | Na | Cu | Fe | Mn | Zn |
|----------------------------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|
| | % | % | % | % | % | ppm | ppm | ppm | Ppm |
| Pasta con harina de chocho | 0,17 | 0,22 | 0,10 | 0,13 | 0,04 | 2 | 136 | 18 | 29 |
| Pasta solo harina de trigo | 0,02 | 0,4 | 0,04 | 0,27 | 0,01 | 6 | 35 | 9 | 29 |

Tabla 11- Comparación de aminoácidos esenciales con el Patrón del Institute of Medicine, National Academy of Science, 2002

| | Patrón de aminoácidos para niños mayores de 1 año y adultos | Harina de chocho | Pasta 100% Harina de trigo | Pasta 20% harina de chocho con cáscara y 80% de harina de trigo |
|-------------------------|---|------------------|----------------------------|---|
| Histidina | 1,8 | 224,44 | 137,78 | 182,22 |
| Isoleucina | 2,5 | 215,60 | 130,40 | 173,60 |
| Leucina | 5,5 | 176,00 | 120,91 | 149,64 |
| Lisina | 5,1 | 141,96 | 40,98 * | 90,00 * |
| Metionina + cistina | 2,5 | 92,00 * | 104,40 | 100,80 |
| Fenilalanina + Tirosina | 4,7 | 162,13 | 158,30 | 163,40 |
| Treonina | 2,7 | 154,07 | 96,67 * | 125,93 |
| Valina | 3,2 | 142,81 | 122,19 | 134,89 |
| Triptófano | 0,7 | 112,86 | 84,29 * | 100,00 |

*Aminoácidos deficitarios en Pastas.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE SEMILLAS Y DEL PROCESO GERMINATIVO DE SEIS ESPECIES DE ORQUÍDEAS AMENAZADAS EN LA PROVINCIA DE LOJA PARA LA CONSERVACIÓN EN EL BANCO DE GERMOPLASMA DE LA UTPL

Rosa Pazmiño^{1/} y Ramiro Velasteguí^{2/}

1/ Ing. Bioq, Carrera de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato. ro_12rosy@hotmail.com

2/ Profesor, Ing. Agr., MSc, PhD, Carrera de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato. rvelasteguis@yahoo.com

Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica.

Campus Huachi, Av. Los Chasquis y Río Payamino.

Tel: 593-32400989, Fax 593-32400998

Ambato – Ecuador

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar patrones morfológicos semejantes y diferentes de semillas y del proceso germinativo de: *Ada andreettae*, *Cyrtorchilum tricostatum*, *Epidendrum arachnoglossum*, *Helcia sanguinolenta*, *Prosthechea fragrans*, *Scuticaria salesiana* cultivadas en dos medios (MS y KND). Cualitativamente las semillas poseen tonos de coloración marrón y forma ovalada a excepción de *E. arachnoglossum* que es alargada. Cuantitativamente semillas se encuentran en un rango de 0,5 – 3mm de largo y 0,05 a 0,5 mm de ancho, por lo tanto *E. arachnoglossum* la que posee mayor dimensión y menor número de semillas por miligramo, y *S. salesiana* posee menor dimensión y mayor cantidad de semillas por miligramo pesado. Todas las especies poseen un porcentaje de germinación mayor del 70%. El mejor medio de cultivo resultó ser el MS porque origina mayor porcentaje de germinación y un crecimiento entre 10% y 50% mayor en las estructuras medidas respecto al medio KND. Según la caracterización del proceso germinativo se identificaron las semillas que presentan dimensiones semejantes en sus estructuras durante la germinación. Las semillas *S. salesiana* y *H. sanguinolenta* constituyen un grupo homogéneo. *H. sanguinolenta* y *A. andreettae* muestran crecimientos significativamente mayores con respecto a las especies *C. tricostatum*, *S. salesiana*, *P. fragrans* y *E. arachnoglossum*. Finalmente se estableció que no existen relaciones de proporcionalidad entre las dimensiones del proceso germinativo en ninguna de las especies, en ninguno de los estadios de la germinación.

SUMMARY:

The objective of this research was to determine morphological patterns similar and different seeds and germination process of: *Ada andreettae*, *Cyrtorchilum tricostatum*, *Epidendrum arachnoglossum*, *Helcia sanguinolenta*, *Prosthechea fragrans*, *Scuticaria salesiana* that were grown in two media (MS and KND). Qualitatively seeds have shade of brown color and oval shape, except for *E. arachnoglossum* which is elongated. Quantitatively seeds are in the range of 0.5 - 3 mm long and 0.05 to 0.5 mm wide, therefore *E. arachnoglossum* possesses larger and fewer seeds per milligram and *S. salesiana* has smaller and more seeds per milligram weighted. All species have a germination rate greater than 70%. The best culture medium proved to be the MS because it causes the highest percentage of germination and growth of between 10% and 50% higher in action on the environment structures KND. According to the germination process characterization identified the seed with similar dimensions in their structures during germination. The seeds *S. salesiana* *H. sanguinolenta* constitute a homogeneous group. *H. sanguinolenta* and *A. andreettae* show significantly higher growth compared to the species *C. tricostatum*, *S. salesiana*, *P. fragrans* and *E. arachnoglossum*. Finally it was established that there is no proportionality between the size of the germination process in any of the species in any of the stages of germination.

PALABRAS CLAVES: Orquídeas, proceso germinativo de orquídeas, semillas y cápsulas de orquídeas.

INTRODUCCIÓN:

Las orquídeas pertenecen a la familia Orchidaceae, una de las más grandes, diversas y evolucionadas del reino vegetal con aproximadamente 25,000 a 35,000 especies (Senghas, 2001) agrupados entre 600 y 800 géneros (Pérez, 2001). Según el Jardín

Botánico de Lankester el 10% de todas las plantas con flores son orquídeas debido a su amplia distribución en casi todos los ecosistemas.

El Ecuador cuenta con alrededor de 4000 especies siendo el país con mayor diversidad de orquídeas en el mundo (Dodson, 2002). Es la familia más diversa dentro de las plantas vasculares registradas con alrededor de 4.016 especies de orquídeas descritas, de las cuales el 43.3 % son endémicas (Jorgensen y León – Yanez, 1999).

Este es un dato interesante considerando el tamaño del país, el cual alberga la mayor cantidad de especies de animales y plantas por km² que el resto de países en el mundo (Mantareys, 2004), esto ocurre gracias a la multitud de ecosistemas y microclimas existentes generados por la cadena montañosa de los Andes.

Ecuador es reconocido por poseer una gran diversidad de orquídeas, sin embargo, muchas de las especies que existen en su territorio (al igual que sucede en otras partes del mundo) están en peligro de extinción.

La deforestación ha provocado serios daños especialmente en las poblaciones de orquídeas epífitas, las cuales, al ser tan especializadas en su ecología, se ven seriamente afectadas por los cambios ambientales.

Según el libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador, la familia Orchidaceae es una de las más vulnerables del país, debido a presiones antropogénicas como: la destrucción de su hábitat y la gran extracción de especímenes de los bosques provocada por el gran interés comercial que ha

despertado desde hace muchos años (Ávila y Salgado, 2006; Dodson, 2004). Pierick (1994), argumentó que la deforestación de los bosques, la degradación de los ecosistemas montañosos y la contaminación ambiental han conllevado a que algunas especies se encuentren en peligro de extinción.

Las semillas de las orquídeas son conocidas usualmente como semillas polvo, ya que son muy pequeñas y contienen pocas reservas de alimentos (Mckendrick, 2000). Se encuentran entre las más pequeñas de todas las plantas con flores, pesan entre 0,3 y 14 µg, y miden de 0,25 a 1,2 mm en largo y 0,09 a 0,27 en ancho, son producidas en un gran número, los rangos van entre 1.300 a 4.000.000 semillas por cápsulas (Arditti, 1967). Se componen de una testa muy dura que cubre al embrión de pocas células porque no poseen endosperma, por lo tanto, prácticamente no tienen material de almacenamiento que puedan ocupar para su propia germinación y crecimiento (Mitchell, 1989), además el embrión se encuentra rodeado de un gran volumen de aire que le permite flotar por periodos largos (Mckendrick, 2000). Usualmente estas semillas no germinan en el medio natural a menos que sean infectadas por un hongo micorriza, el mismo que abastece a las plantas jóvenes con azúcares y nutrientes que necesitan hasta que sean lo suficientemente grande para fabricar su propio alimento (Mckendrick, 2000).

El conocimiento morfológico de la semilla permite obtener información sobre caracteres como color, forma, tamaño, superficie, peso, largo, ancho, etc. hecho que proporciona la identificación de los grupos taxonómicos y su relación con las especies. (Healey et al., 1980; Ackerman and Williams, 1981). Por lo tanto la caracterización morfológica es una herramienta útil para la clasificación e identificación de especies.

Clifford & Smith (1969), fueron los primeros en realizar el análisis morfológico y los primeros en proponer que la morfología de las semillas de orquídeas pueden ser una gran ayuda para su clasificación, después de este hecho algunos estudios sobre este tema han sido publicados. Las variables frecuentemente evaluadas en la descripción morfológica de semillas, se centran en aspectos biométricos como la longitud y el ancho (Illipronti et al. 1997; Dehghan-Shoar et al. 1998; Chtioui et al. 1998, Illipronti et al. 1999), el área (Chtioui et al.

1998 y Dehghan-Shoar et al. 1998), la forma (Sahoo et al., 2000) de acuerdo a figuras geométricas o adecuación a modelos matemáticos (Chtioui et al. 1998, Ohsawa et al. 1998, Illipronti et al. 1999), y peculiaridades morfológicas (Dehghan-Shoar et al. 1998). Hay informes de mediciones específicas en testas como estudio del color (Casady et al. 1992, Sahoo et al. 2000), textura (Sahoo et al. 2000) y aspectos tridimensionales (Chtioui et al. 1998).

Según Mitchell (1989) en el proceso de germinación de las orquídeas existen cinco etapas bien definidas. En la etapa 0 o estado basal las semillas se encuentran sin germinar; en la etapa 1 ocurre el crecimiento del embrión (protocormo) y ruptura de testa; siguiendo a su etapa 2 donde se produce el desarrollo del protocormo y aparición de rizoides; en la etapa 3 se origina el crecimiento rápido del protocormo y desarrollo de una yema apical. Posterior a esta etapa comienza la aparición de hojas y el desarrollo de raíces que permiten el establecimiento de las plántulas. Cabe mencionar que el primer signo de germinación sucede cuando las semillas ingresan agua al embrión y comienza a hincharse, esto seguido por un cambio en el color de la semilla (al comienzo puede parecer pálido su color pero finalmente se torna de un color verde porque es el comienzo de producción de clorofila). (Seaton y Ramsay, 2005).

El conocer las etapas de germinación podría ayudar a la reproducción sobre todo de aquellas poblaciones que están fuertemente amenazadas por el avance de las plantaciones forestales, especialmente por la pérdida de hábitat y el uso masivo de pesticidas que disminuyen las poblaciones de insectos polinizadores (Novoa et al. 2004).

La conservación de orquídeas en bancos de semillas representa un método fácil, seguro y de baja relación costo-beneficio, puede ser aplicada a un amplio rango de especies de una forma fácil y universal y se puede conservar gran parte o toda la diversidad genética intra e interespecífica por largos períodos de tiempo. (Santos, 2005)

Una técnica de conservación ex situ, es la regeneración in vitro, que permite una rápida multiplicación de especies en espacios reducidos (Martínez et al., 2003), esta se perfila como una serie de técnicas alternativas para la reproducción de orquídeas bajo condiciones asépticas controladas. Según Echeverría (1997) la propagación masiva in vitro de orquídeas, produce altos niveles de

multiplicación en períodos de tiempo cortos, además asegura la sanidad del material en multiplicación. Por lo tanto, el cultivo in vitro se completa como una respuesta alternativa para el problema de las especies en peligro de extinción y en el mantenimiento de híbridos de gran valor.

Por lo anteriormente expuesto el presente trabajo tiene como propósito caracterizar morfológicamente las semillas y el proceso germinativo de seis especies amenazadas dentro de la provincia de Loja, con el fin de encontrar semejanzas y diferencias morfológicas en el proceso de germinación, también conocer el porcentaje de viabilidad y germinación de las semillas en estudio y además contribuir en la generación de información para la conservación ex situ de germoplasma de las orquídeas amenazadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de las especies en estudio

Se trabajó con un total de 6 especies (tabla 1) correspondiente a la familia Orchidaceae, las cuales se encuentran en cierto grado de amenaza.

| Tribu | Sub tribu | Genero | Especie | Estado de Amenaza |
|---------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|--|
| <i>Cymbidieae</i> | <i>Oncidiinae</i> | <i>Ada</i> | <i>andreettae</i> | Vulnerable (libro rojo) Apendice II (CITES) |
| <i>Cymbidieae</i> | <i>Oncidiinae</i> | <i>Cyrtochilum</i> | <i>tricastatum</i> | Apendice II (CITES) |
| <i>Epidendreae</i> | <i>Laeliinae</i> | <i>Epidendrum</i> | <i>arachnoglossum</i> | Apendice II (CITES) |
| <i>Maxillarieae</i> | <i>Oncidiinae</i> | <i>Helcia</i> | <i>sanguinolenta</i> | Apendice II (CITES) |
| <i>Epidendreae</i> | <i>Laeliinae</i> | <i>Prosthechea</i> | <i>fragrans</i> | Apendice II (CITES) |
| <i>Cymbidieae</i> | <i>Maxillariinae</i> | <i>Scuticaria</i> | <i>salesiana</i> | Apendice II (CITES) |

Fuente: Catálogo de Plantas Vasculares del Ecuador 1999

Obtención del material

Se recolectaron cápsulas maduras del Vivero Municipal de la ciudad de Loja, registrando el nombre del colector, la fecha de recolección, el número de cápsulas recolectadas y su estado.

Caracterización Morfológica de Cápsulas

Se registraron caracteres cualitativos como el color determinado por los códigos de la carta de colores "MUNSELL COLOR CHARTS FOR PLANT TISSUES" y forma de las cápsulas según (Arditti, 1980), además se determinó los caracteres cuantitativos como el peso obtenido por una balanza

de 5 dígitos, el largo y ancho utilizando un calibrador y un escalímetro Stainless Steel Vernier.

Caracterización Morfológica de Semillas

Según el protocolo de Seaton y Ramsay (2005) se recolectó las semillas y se obtuvo su peso total. Se determinaron caracteres como el color basándose en la carta de colores "MUNSELL COLOR CHARTS FOR PLANT TISSUES", la forma de la semilla fue observada en el estereoscopio y su descripción se basó en la representación según Clifford & Smith, (1969), además se realizó el conteo de de semillas en 1mg para conocer la cantidad que será utilizada en todo el experimento.

Para cada especie se tomó una muestra aleatoria de 50 semillas, sugerida por Laynez, et al (2007) para la determinación de caracteres cuantitativos, con el microscopio se determinó el largo y ancho tanto de la semilla (testa) y del embrión, para obtener su área, una vez obtenidos los datos cuantitativos se procedió a realizar el contraste múltiple de rangos utilizando el programa STATGRAPHICS.

Viabilidad de Semillas

Se realizó mediante la prueba de tetrazolium (ISTA 2005) procedimiento descrito por Lakon 1949, en este caso se colocó 1mg de semillas de cada especie en 2ml de solución de tetrazolium para someterlas a la incubadora a una temperatura controlada de $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Luego se evaluó las semillas en el estereomicroscopio (Motic MICROSCOPES MLC – 150C) y se determinó su viabilidad de acuerdo a su tinción e intensidad de coloración, los resultados fueron expresados en porcentaje y representados en un gráfico de vialidad.

Almacenamiento de semillas

Las semillas recolectadas se colocaron en un frasco de con bolsas de silicagel separando en colección activa y en colección de almacenamiento, y se colocó en un jarrón de vidrio de sellado hermético sometiéndolo al congelador a -20°C para su almacenamiento.

Siembra de Semillas

Se realizó en dos medios de cultivo Murashige y Skoog (1962) y Knudson (1992) ajustados a pH 5.8 para cada una de las especies se sembró 1mg de semillas. Utilizando el protocolo descrito por Seaton y Ramsay (1995) se colocó las semillas en un sobre pequeño de papel filtro y se esterilizó por 3 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 1%, para después colocarlas en agua destilada estéril por un minuto, posteriormente con la ayuda de pinzas se abrió el sobre y se colocó las semillas en los dos medios de cultivo dentro de cajas petri de vidrio, utilizando cinco repeticiones por especie este procedimiento se lo realizó en una cámara de flujo laminar para evitar contaminación. Las semillas sembradas fueron germinadas a una temperatura promedio de 21°C , con una humedad promedio de 65-75% en un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad con lámparas fluorescentes de 40 W.

Germinación de Semillas

Para la geminación de semillas se tomó en cuenta aquellas que alcanzaron por lo menos la segunda etapa descrita por Mitchell (1959) a través de una lupa, una vez identificadas las semillas germinadas con la ayuda del microscopio se procedió al conteo de semillas para conocer el número de semillas germinadas y el número de semillas no germinadas y obtener el total de semillas sembradas, con esto se calculó el porcentaje de semillas germinadas representadas en un gráfico de cada medio de cultivo utilizado. Se debe tomar en cuenta que este procedimiento se realizó sin salir de su estado de esterilidad.

Tiempo de Crecimiento

Desde el primer día en que las semillas fueron sembradas se tomó en cuenta los días que estas alcanzan las etapas de germinación, así se determinó el tiempo que se demoran las semillas en desarrollarse, estos datos no se clasificó por medios de cultivo porque los tiempos son iguales, se representó en un gráfico expresado para cada especie y etapa.

Caracterización morfológica del Proceso Germinativo
Con una lupa se identificó los estadios de germinación descritos por Mitchell (1959), se observó y midió en el microscopio las dimensiones correspondientes para todas las etapas según la tabla 2.

Tabla N 2. Etapas y mediciones realizadas en el proceso germinativo

| Etapas | Largo y ancho de Semillas | Diámetro de Embrión | Diámetro de Protocolmo | Largo y ancho de Brote | Largo y ancho de Hoja |
|---------|---------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| Etapa 1 | X | X | | | |
| Etapa 2 | X | X | | | |
| Etapa 3 | | | X | | |
| Etapa 4 | | | X | X | |
| Etapa 5 | | | X | X | X |

Con los datos obtenidos se calculó el área de las semillas germinadas y se realizó el análisis en el programa STATGRAPHICS utilizando el análisis factorial para cada etapa de las seis semillas clasificadas por medio de cultivo, además se realizó un análisis múltiple de rangos para conocer las semejanzas y diferencias entre especies.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Selección de Especies

Todas las especies tienen una división taxonómica en tribu y subtribu denotándose que las especies *Ada andreettae*, *Cyrtochilum tricostatum* pertenecen a la tribu Cymbidiae con su respectiva sub tribu *Oncidiinae*, lo mismo sucede con la especie *Epidendrum arachnoglossum* y *Prosthechea fragrans* que pertenecen a la tribu *Epidendrae* y a la subtribu *Laeliinae*, la especie *Helcia sanguinolenta* pertenece a la tribu *Maxillarieae* con su respectiva sub tribu *Oncidiinae* y para finalizar la especie *Scuticaria salesiana* corresponde a la tribu *Cymbidieae* y a la subtribu *Maxillariinae*. En cuanto al estado de amenaza la única especie en estado de amenaza reportado por el Libro Rojo del Ecuador (Valencia et al, 2000) es *Ada andreettae* que se encuentra en estado de amenaza descrito en el CITES, en el

Apéndice II (webside) y en el Catálogo de Plantas Vasculares del Ecuador (Jorgensen & León, 1999). Las demás especies fueron seleccionadas porque se encuentran en la lista de Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, UICN, (webside) y en el Apéndice II del CITES, que exige que estas especies sean controladas en su comercialización por su posible avance al siguiente al estado de amenaza.

Obtención del Material

Las cápsulas al encontrarse cerradas se tuvo que esperar un tiempo para que en estas se produzca la dehiscencia ya que reportes de otras investigaciones (Batty, 2001; Mitchell, 1989; Hartmann y Kester, 1988) señalan que es mejor sembrar las semillas provenientes de su proceso natural de abandono de la cápsula porque se las somete a una esterilización directa, además que así se puede obtener un porcentaje de viabilidad mayor.

Caracterización Morfológica de Cápsulas

Existen tres formas de cápsulas de las especies seleccionadas ovalada, alargada y estrellada, siendo la forma ovalada la más usual de todas. Entre la forma alargada y ovalada suele haber confusiones debido a que su forma y color son muy parecidas, presentando una amplia similitud en la distribución de los carpelos (Arditti, 1967), pero se tiene que tomar en cuenta las proporciones de las mismas para no confundirlas, ya que al realizar las mediciones se nota claramente que la forma alargada posee mayor largo y ancho, por lo tanto es más grande que la ovalada. La forma estrellada es específico para algunas especies, como es el caso de *P. fragrans*.

Una herramienta complementaria para la caracterización de las cápsulas es el color de las mismas, ya que suelen tener matices parecidos en la escala del color verde, pero al ser evaluados con tablas de colores estándares se nota la diferencia (Seaton, 2005), en este caso, las cápsulas se presentan en la tabla 7.5GY que pertenece al color verde, pero en diferentes niveles de intensidad de color, teniendo gamas de color verde oscuro hasta verde claro, comprobándose así lo antes dicho.

Lo establecido por Arditti (1967) se comprueba al realizar la caracterización cuantitativa de las cápsulas, ya que al comparar los datos de *A. andreettae* y *S. salesiana* con los datos de *C. tricostatum*, *E. arachnoglossum* y *H. sanguinolenta* poseen diferentes formas de cápsulas debido a sus

dimensiones, a simple vista parecen iguales pero el momento de realizar las mediciones se nota claramente la diferencias de tamaños que estas poseen, y por lo tanto se clasifican como otro grupo. La especie *P. fragrans* posee dimensiones parecidas a *C. tricostatum* pero se diferencia en el ancho, ya que *P. fragrans* al tener una forma estrellada, es más ancha y posee mayor grosor.

Caracterización Morfológica de Semillas

La determinación de los pesos totales de las semillas demostró que *C. tricostatum* es la especie que tuvo mayor población disponible para el crecimiento y almacenamiento, ya que se recolectaron un número mayor de cápsulas de la misma planta, y lógicamente va a poseer mayor cantidad de semillas. Lo contrario sucedió con *P. fragrans* que tuvo una menor cantidad de material disponible para el estudio, a pesar de que provenía de dos cápsulas, por lo tanto esta especie es la que posee menor cantidad de semillas por cápsulas recolectadas.

En la caracterización cualitativa se demuestra que el color de todas las semillas se encuentra en la gama de color café descritos en la tabla de colores (Anexo F), indicando que las semillas se encuentran en la gama de café claro, marrón y café oscuro, corroborando la descripción realizada por Arditti (1980). La mayoría de las semillas posee la misma forma ovalada a excepción de *E. arachnoglossum* que posee una forma alargada y por ende es más grande que las demás semillas.

Los conteos de las semillas fueron necesarios para comprobar que el momento de la siembra de las semillas se trabajó con las mismas cantidades de semillas para todas las especies, según Seaton y Ramsay (2006) conocer la cantidad de semillas que van a ser cultivadas es fundamental para determinar el porcentaje de germinación en las investigaciones con orquídeas. La especie *E. arachnoglossum* tiene menor cantidad de semillas por miligramo, ya que al ser la semilla mas alargada posee mayor tamaño, lo contrario sucede con *S. salesiana* que posee la mayor cantidad de semillas por miligramo, ya que tiene un menor tamaño.

Al realizar las mediciones, los resultados permitieron verificar que las semillas en estado basal tienen un tamaño comprendido entre 0,2 a 2,5 milímetros de largo y 0,05 a 0,4 milímetros de ancho, demostrando así que *E. arachnoglossum* tiene 2,40 milímetros de largo y 0,32 milímetros de ancho, dimensión significativamente mayor con respecto a las demás semillas, las cuales se mantienen en un rango que no difieren considerablemente, por esta razón tienen menos semillas por cada miligramo. Además se demostró que las semillas de *S. salesiana* tienen 0,21 milímetros de largo y 0,12 milímetros de ancho por lo tanto son las más pequeñas del estudio teniendo mayor cantidad de semillas por miligramo.

Viabilidad de Semillas

Lakon (1949) afirma que los porcentajes de semillas viables que superen el 70% tienen mayor probabilidad de proporcionar una germinación alta, esta predicción es necesaria para el cultivo de orquídeas. Todas las semillas del estudio tuvieron un porcentaje mayor del 70%, siendo *A. andreettae*, *E. arachnoglossum*, *H. sanguinolenta* y *P. fragrans* las especies con mas viabilidad reportada, con porcentajes mayores del 80%, lo contrario sucedió con *C. tricostatum* y *S. salesiana* siendo las especies con menos viabilidad del estudio, con porcentajes de 75%. Cabe recalcar que este procedimiento es fundamental para proceder al almacenamiento de semillas, ya que al presentar un porcentaje de viabilidad bajo es improductivo conservarlas porque tienen una probabilidad menor de ser entes germinadores, por lo tanto no poseen la suficiente capacidad para formar una nueva planta.



Figura 1. % de Viabilidad

Porcentaje de germinación

Mitchell (1989) determinó que el porcentaje de germinación es la cantidad de semillas que alcanzan por lo menos la segunda etapa, es decir que ingrese cierta cantidad de agua al embrión para comenzar el proceso de crecimiento y subsiguiente formación del protocormo. Siguiendo este enunciado se nota claramente que todas las semillas alcanzaron este proceso de germinación, tomando en cuenta que existe mayor porcentaje de germinación en el medio MS a comparación del medio KND, situación que depende estrictamente de la cantidad de nutrientes que posee cada medio de cultivo. Sin embargo la especie *S. salesiana* tiene el menor porcentaje en los dos medios, alrededor de 55%, es decir esta es la especie que menor crecimiento tuvo a lo largo del estudio, mientras que *H. sanguinolenta* tiene un promedio de 83% de germinación en los dos medios, por lo tanto es la especie que tuvo mayor crecimiento.



Figura 2. % Germinación en Medio MS

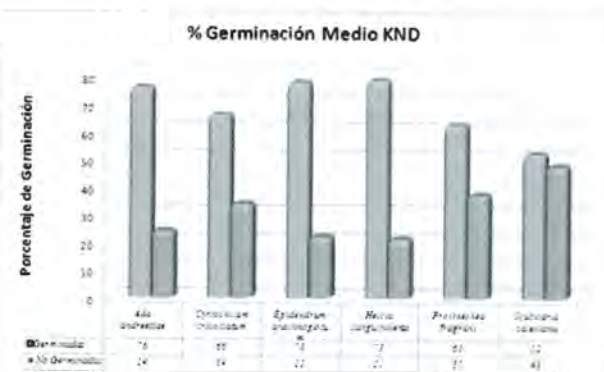


Figura 3. % Germinación en Medio KND

Tiempo de Crecimiento

Seaton y Ramsay (2005) establecen que las orquídeas pueden llegar a germinar en seis meses y su periodo de crecimiento puede durar años dependiendo de la especie. En el caso de la investigación la especie que se tarda más días en alcanzar la quinta etapa es *Heliconia sanguinolenta*, porque en el cambio de segunda a tercera etapa se produjo una reproducción asexual de células denominada embriogénesis somática, que es el desarrollo de embriones a partir de células que no son el producto de una fusión de gametos durante la fecundación, permitiendo la formación de callos que no son más que centros embriogénicos, que con el pasar del tiempo darán como resultado una planta (Lindorf et al, 1985). Es decir que esta especie tuvo mayor cantidad protocormos, lo que explica el alto porcentaje de germinación. Cabe mencionar que este tipo de reproducción se suscitó solo en esta especie en los dos medios, ya que tiene predisposición hacia este tipo de reproducción, además que recepta en mayor cantidad el zinc (Zn) contenido en los medios de cultivo, lo que predispone al embrión a esta división (Knudson, 1946). Por lo tanto, todo esto retrasa el avance a las siguientes etapas demorándose 235 días hasta alcanzar la 5 etapa. La especie que se tarda el menor tiempo en crecer es *Prosthechea fragrans* con 109 días. Es muy importante recalcar que todo lo anteriormente mencionado sucedió de tanto en el medio MS como en KND, por lo tanto se afirma que el medio de cultivo no afecta significativamente al tiempo de crecimiento de las especies en estudio.

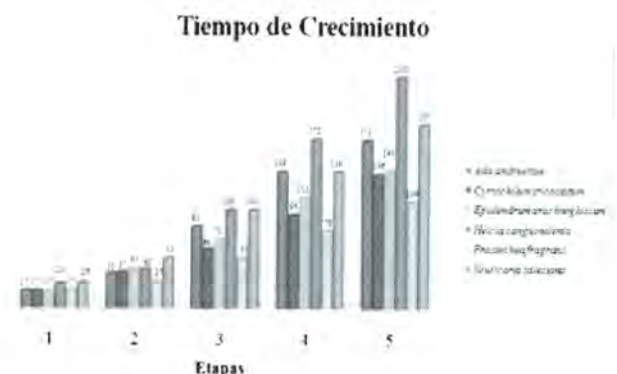


Figura 4. Tiempo de Crecimiento

Caracterización del Proceso Germinativo

En los intervalos formados por la media más/menos la desviación típica se encontró el 66,3% de los valores correspondiente a cada parámetro medido en las distintas especies. En los intervalos formados por la media más/menos dos veces la desviación típica $\bar{x} \pm 2\sigma$ encontró el 99,9% de los valores correspondientes a cada parámetro medido en las distintas especies.

Por otra parte fue fundamental describir la forma de la distribución de las distintas variables morfológicas y el grado de semejanza con la distribución normal. Esto es importante porque una desviación significativa respecto a la distribución normal podría haber invalidado los análisis realizados, ya que tienen como propósito la comparación de poblaciones normales. La semejanza a la distribución normal se determinó con el coeficiente de curtosis y el coeficiente de asimetría para cada medio. Las variables morfológicas estudiadas están prácticamente todas en intervalo [-2,2], por tanto su distribución se asemeja lo suficiente a la normal, lo que permitió realizar análisis de varianza para los dos medios de cultivo.

En el medio MS las especies *S. salesiana* y *H. sanguinolenta* presentan semejanzas morfológicas en las etapas E1 E2 y E3 constituyendo un grupo homogéneo en estos estadíos por lo tanto tienen semejanza morfológica en estas etapas, se diferencian posteriormente en los estadíos E4 y E5.

Tabla 1. Grupos según análisis estadístico en MS

| Especie | Área Testa E1 | Área Embrión E1 | Área Testa E2 | Área Embrión E2 | Área Protocolmo E3 | Área Protocolmo E4 | Área Brote E4 | Área Protocolmo E5 | Área Brote E5 | Área Hoja E5 |
|--------------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|--------------------|--------------------|---------------|--------------------|---------------|--------------|
| <i>S. salesiana</i> | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| <i>C. tricosatum</i> | A | A | A | A | A | B | B | B | B | A |
| <i>H. sanguinolenta</i> | AB | A | A | A | B | C | C | C | C | B |
| <i>A. andreettae</i> | B | A | B | B | B | D | D | C | D | B |
| <i>P. fragrans</i> | C | B | C | C | C | E | D | D | D | C |
| <i>E. arachnoglossum</i> | D | C | D | B | C | F | D | E | E | C |

Sin embargo las especies *P. fragrans* y *E. arachnoglossum* presentan diferencias significativas en todos los estadíos respecto al resto de las especies en todas las variables morfológicas estudiadas, y entre ellas mismas salvo en el área del protocormo E3, el área de brote E4 y el área de la hoja E5. Por tanto forman grupos independientes desde el punto de vista morfológico.

Las especies *A. andreettae* y *C. tricosatum* se comportan como un grupo de transición en los estadíos E1 y E2 entre las especies *S. salesiana* y *H. sanguinolenta*, y los grupos de las especies *P. fragrans* y *E. arachnoglossum* porque siempre se encuentran entre estas especies, además se nota semejanzas en al área del embrión E1, el área del protocolo E3 y el área de la hoja E5.

En el medio KND las especies *S. salesiana* y *H. sanguinolenta* presentan semejanzas en seis estadíos de germinación comprobando que son parecidas morfológicamente hablando, también se sigue manteniendo la las diferencias significativas de *Prosthechea* y *Epidendrum* en todos los estadíos en relación a las demás especies formando de igual manera grupos independientes. En el caso de las especies *A. andreettae* y *C. tricosatum* también se comportan como un grupo de transición en los estadíos E1 y E2 entre las especies *S. salesiana* y *H. sanguinolenta*; y los grupos de las especies *P. fragrans* y *E. arachnoglossum* porque siempre se encuentran entre estas especies, pero ahora además se denota mayor cantidad de estadíos diferentes.

Tabla 2. Grupos según análisis estadístico en KND

| Especie | Área Testa E1 | Área Embrión E1 | Área Testa E2 | Área Embrión E2 | Área Protocolmo E3 | Área Protocolmo E4 | Área Brote E4 | Área Protocolmo E5 | Área Brote E5 | Área Hoja E5 |
|--------------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|--------------------|--------------------|---------------|--------------------|---------------|--------------|
| <i>S. salesiana</i> | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| <i>C. tricosatum</i> | AB | A | AB | A | B | A | A | B | A | A |
| <i>H. sanguinolenta</i> | BC | A | B | A | C | B | B | C | B | B |
| <i>A. andreettae</i> | C | A | C | A | D | C | C | C | C | B |
| <i>P. fragrans</i> | D | B | D | C | E | D | C | D | C | C |
| <i>E. arachnoglossum</i> | E | C | E | B | F | E | D | E | D | D |

Según Echeverría (1997) el medio de cultivo influye en crecimiento ya que depende de la cantidad de nutrientes que proporcione el medio de cultivo al tejido vegetal para su desarrollo, el medio MS proporciona mayor cantidad de nutrientes que el medio KND, esto se comprobó al realizar porque, aquí se nota claramente que la mayoría de las especies presenta mayor longitud en los estadíos crecidos en medio MS, deduciendo empíricamente que existe diferencias en los dos medios, suposición que se aclaró al realizar el análisis estadístico demostrando que verdaderamente existe una diferencia en las longitudes de las estructuras estudiadas en las especies *A. andreettae*, *E.*

arachnoglossum, *C. tricostatum* y *H. sanguinolenta* en la mayoría de los estadíos de germinación, esto debido a que MS presenta altos niveles de nitrógeno y potasio, en concentraciones superiores a KND, además de ser el único de ellos en aportar nitrógeno en forma de nitrato de amonio (Cevallos & Pérez, 2008), González (1995) planteó que el nitrato de amonio es la mejor fuente de nitrógeno para garantizar el crecimiento y desarrollo de un gran número de especies de orquídeas y que las sales de amonio promueven el crecimiento y la formación de protocormos durante la germinación. Por tanto es el mejor medio de cultivo para crecer orquídeas.

Sin embargo, el medio de cultivo no influye en el tamaño de las estructuras morfológicas en la especie *S. salesiana* y *P. fragrans*, esto puede deberse a que la germinación depende en buena medida de las preferencias por las fuentes apropiadas de nitrógeno (Cavero et al, 2009), lo que varía en especies de un mismo género, por lo tanto estas dos especies pueden aceptar en la misma cantidad el nitrógeno de MS como de KND.

Una vez conocido que el medio de cultivo sí influye en las estructuras morfológicas se realizó la variación de porcentaje de crecimiento con respecto al medio MS, del cual se deduce que KND proporciona tamaños entre el 10 y el 50% menores en las estructuras morfológicas de las semillas de orquídeas *A. andreettae*, *C. tricostatum*, *H. sanguinolenta* y *E. arachnoglossum*, que los obtenidos en medio MS en función del estadío considerado.

Se consideró las correlaciones para cada especie en el medio MS deduciendo que no existen en general correlaciones fuertes entre las variables medidas en las especies estudiadas dado que los coeficientes de correlación no son próximos ni a 1 ni -1. Esto significa que no se pueden predecir las dimensiones de las estructuras morfológicas de los estadíos de germinación a partir de las dimensiones de otras estructuras. Sólo se han observado relaciones fuertes entre las dimensiones Área Embrión E1 y Área Testa E1 en la especie *C. tricostatum* (0.82), y Área Embrión E1 y Área Testa E2 en la especie *E. arachnoglossum* (0.92) pero como se puede comprobar estas son singularidades dado que, como se ha demostrado por las tablas, no hay relación fija

entre las dimensiones de distintas estructuras. Esto es explicable porque las semillas en el desarrollo al pasar de una etapa pierden estructuras como es el caso del paso de la etapa 1 a la etapa 2 que se pierde gran parte de la testa debido al ensanchamiento del embrión, además existe un cambio total de estructuras como es el caso de la etapa 3 que pasa de ser embrión para convertirse en protocormo, lo mismo sucede en el paso de la etapa 4 a la etapa 5 donde el brote prácticamente se divide para producir la hoja.

En el medio KND se vuelve a observar que las relaciones más fuertes se producen entre las dimensiones Área Embrión E1 y Área Testa E1 en la especie *C. tricostatum* (0.64), pero no ocurre lo mismo en la relación Área Embrión E1 y Área Testa E2 en la especie *E. arachnoglossum* (0.34) que se había manifestado como fuerte en el medio MS. Otra relación fuerte se da entre las variables relaciones Área Embrión E1 y Área Testa E1 en la especie *Ada* (0,65).

La relación entre dimensiones Área Embrión E1 y Área Testa E1 en la especie *C. tricostatum* y Área Embrión E1 y Área Testa E1 en la especie *A. andreettae* (0,65) se consideran singularidades estadísticas, dado que no se han mostrado relaciones fuertes entre ningunas otras variables de ninguna especie.

CONCLUSIONES:

- La especie *P. fragrans* posee una forma de cápsula estrellada que es totalmente diferente con relación a las demás especies en estudio, pero todas las cápsulas están comprendidas en un rango de colores verdes.
- Se determinó cualitativamente que las semillas de orquídeas poseen una coloración marrón y tienen forma ovalada a excepción de *E. arachnoglossum* que posee una forma alargada
- El tamaño promedio de largo de las semillas en estado basal se comprenden entre 0,2 a 2,5 milímetros de largo y 0,05 a 0,4 milímetros de ancho
- Se estableció que las semillas de *E. arachnoglossum* tiene 2,40 milímetros de largo y 0,32 milímetros de ancho, una dimensión significativamente mayor con respecto a las demás semillas y una menor cantidad de semillas por miligramo pesado.

- Se determinó que las semillas de *S. salesiana* tienen 0,21 milímetros de largo y 0,12 milímetros de ancho, siendo una menor dimensión con relación a las otras especies, por lo tanto son las más pequeñas del estudio teniendo una mayor cantidad de semillas por miligramo pesado.

- Se estableció que las semillas de las seis especies de orquídeas alcanzan un 70% de viabilidad, *A. andreettae*, *E. arachnoglossum*, *H. sanguinolenta* y *P. fragrans* poseen porcentajes mayores del 80%, mientras que *C. tricostatum* y *S. salesiana* tienen 75%, siendo las especies con menos viabilidad del estudio.

- La especie que se demoró más tiempo en crecer fue *H. sanguinolenta* con 235 días hasta alcanzar la 5 etapa, mientras que la especie que se tarda el menor tiempo en crecer es *P. fragrans* con 109 días. Además el medio de cultivo no afecta significativamente al tiempo de crecimiento de las especies en estudio.

- Las especies *P. fragrans* y *E. arachnoglossum* forman grupos independientes desde el punto de vista morfológico, presentan diferencias significativas en todos los estadíos respecto al resto de las especies en todas las variables morfológicas estudiadas, y entre ellas mismas.

- En el medio MS las especies *S. salesiana* y *H. sanguinolenta* presentan semejanzas morfológicas en las etapas E1 E2 y E3 constituyendo un grupo homogéneo en estos, se diferencian posteriormente en los estadíos E4 y E5

- Se han identificado las semillas que presentan dimensiones semejantes en cuanto a sus estructuras durante la germinación constituyendo grupos homogéneos como es el caso de *Scuticaria salesiana* y *Helcia sanguinolenta*.

- Las especies *A. andreettae* y *C. tricostatum* se comportan como un grupo de transición en los estadíos E1 y E2 entre las especies *S. salesiana*, y *H. sanguinolenta*; y los grupos de las especies *P. fragrans* y *E. arachnoglossum* porque siempre se encuentran entre estas especies.

- El medio de cultivo influye en el desarrollo de las longitudes de las estructuras estudiadas en las especies *A. andreettae*, *E. arachnoglossum*, *C. tricostatum* y *H. sanguinolenta* en la mayoría de los estadíos de germinación. Sin embargo no influye en el tamaño de las estructuras morfológicas en la especie *S. salesiana* y *P. fragrans*.

BIBLIOGRAFÍA:

- ARDITTI, J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seeds. *The botanical Review*. 33 (1). 1-97.
- ÁVILA, I Y SALGADO, R. 2006. Propagación y mantenimiento in vitro de orquídeas mexicanas, para colaborar en su conservación. *Biológicas*. 8. 138-149.
- CASADY, W.W., M. R. PAULSEN, J.F. REID & J.B. SINCLAIR. 1992. A trainable algorithm for inspection of soybean seed quality. *American Society of Agricultural Engineers*. 35(6). 2027-2034
- CAVERO M., COLLANTES B., PATRONI C. 2009. Centro de datos para la conservación de orquídeas del Perú, Perú 189. 1-100.
- CEVALLOS, Y., C. PÉREZ. 2008. Conservación de semillas de cinco especies de orquídeas de bosque Montano al Sur del Ecuador. Departamento de Biología de la Universidad Politécnica de Madrid y Unidad de Fisiología Vegetal, Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador. 2pp.
- CHTIOUI, Y., D. BERTRAND & D. BARBA. 1998. Feature selection by a genetic algorithm application to seed discrimination by artificial vision. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76. 77-86
- CITES, 2011. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas (en línea). Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <http://www.cites.org/esp/index.php>.
- CLIFFORD HT, SMITH WK. 1969. Seed morphology and classification of Orchidaceae. *Phytomorphology* 19: 133±139.
- DEGHAN-SHOAR, M., J.G. HAMPTON & S. J. HASLETT. 1998. Identification of, and discrimination among, lucerne (*Medicago sativa* L.) varieties using seed image analysis. *Plant Varieties and Seeds* 11. 107-127
- DODSON, C. 2004. Native Ecuadorian orchids. Volume V: *Rodriguezia-Zygosepalum*. Imprenta Mariscal. Quito, EC.
- DODSON, C. 2002. Orquídeas nativas del Ecuador. Missouri Botanical Garden Press. Volumen 78.
- ECHEVERRÍA, M. 1997. Propagación in Vitro de Nogal (Junglas neotropica diles) Tesis de Ingeniería Forestal. UTN. Ibarra- Ecuador. 64pp

- GONZÁLEZ, F. 1995. Presentación. En: Orquídeas de Costa Rica y su cultivo Vol 1. *Cattleya* y géneros relacionados. Ed. por la Asociación Costarricense de Orquideología. San José, Costa Rica, Litografía e Imprenta LIL. pp 4-5.
- HEALEY PL, MICHAUD JD, ARDITTI J. 1980. Morphometry of orchid seeds: III. Native California and related species of *Goodyera*, *Piperia*, *Platanthera* and *Spiranthes*. *Amer J Bot* 67. 508-518.
- ILLIPRONTI JR., R. A., C. J. LANGERAK & W. J. M. LOMMEN. 1997. Variation in and relationships between physical and physiological seed attributes within a soybean seed lot. *Seed Science and Technology*. 25. 215-231.
- ILLIPRONTI JR., R.A., C. J. LANGERAK & W. J. M LOMMEN. 1999. Variation in physical seed attributes relates to variation in growth of soybean seedlings within a seed lot. *Seed Science and Technology*. 27. 339-357.
- JORGENSEN M., & LEÓN YAÑEZ 1999. Catalogue of vascular plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden Press. Vol. 75. U.S.A.
- KNUDSON, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. *American Orchid Society Bulletin*. 15. 214-217
- LAYNEZ GARSABALL (2007). Efectos de Extractos Acuáticos de la Maleza *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) sobre la Germinación de Semillas y Crecimiento de Plántulas de Maíz (*Zea mays* L.) cv. Pioneer 3031. *Revista Peruana de Biología*, Vol. 14, No. 01, pp. 55-60.
- MANTAREYS, EL NUEVO EMPRESARIO. 2004. Datos curiosos sobre la biodiversidad de Ecuador. 2 pp
- MARTÍNEZ, R; AZPIROZ, H; RODRÍGUEZ, J; CETINA, V Y GUTIÉRREZ, M. 2003. Aplicación de la biotecnología en los recursos genéticos forestales. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, enero-junio, año/vol. 9. Número 001. Universidad Autónoma Chapingo, MX. 19 pp.
- McKENDRICK, S. 2000. Manual para la germinación in vitro de orquídeas. Disponible en: [www.ceiba.org/documents/CFTCpropman\(SP\).pdf](http://www.ceiba.org/documents/CFTCpropman(SP).pdf).
- MITCHELL, R. 1989. Growing hardy orchids from seeds at Kew. *Plantsman*. 11(3). 152 – 169.
- MURASHIGE, T. y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant*. 15:473-497.
- NOVOA, P., J. ESPEJO & M.CISTERNAS. 2004. Iconografía y descripción de las orquídeas nativas de Chile. *Chloris chilensis*. Disponible en: <http://www.chlorischile.cl>.
- PÉREZ E. 2001. Plan de acción para la conservación de orquídeas del género *Cattleya* en Colombia. Cali.
- PIERIK, R L M. 1994. Biotecnología Vegetal como herramienta en la Horticultura Ornamental. *Chapingo* 1 (1). 45-57.
- SAHOO, L., M. DADLANI, D.P. SINGH & S.P. SHARMA. 2000. Characterization of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes using laboratory techniques. *Plant Varieties and Seeds*. 13. 31-43.
- SANTOS E. 2005. Orquídeas: Notas. Tema 35.38. México.
- SEATON P, RAMSAY M. 2005. Growing orchids from seed. *Kewgrowing*, Royal Botanic Gardens, Kew, Londres. Pág 64- 65.
- SENGHAS K. 2001. Die orchideen. 3a. ed., vol. I/C. fasc 44/45. Parey Buchverlag. Berlin, 2828 pp.
- UICN. 2001. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN. Versión 3.1. 33 pp. The Nature Bureau, Newbury, Reino Unido.

“APROVECHAMIENTO DEL SUERO DE QUESERÍA EN LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA A PARTIR DE MEZCLAS CON JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR (*saccharum officinarum*)”

Carlos Benjamín Mosquera Tigse, Gladys Navas Miño

Universidad técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
Campus Académico Huachi, Av. Los chasquis y Río Payamino, Telf: 032400987, fcial@uta.edu.ec,
karlos_mosqueratz@hotmail.es; glacenam@hotmail.com

RESUMEN

En este trabajo se presenta una bebida fermentada elaborada con suero de queso al cual se lo mezcló en diferentes porcentajes con jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). El suero resultante de la producción de queso se lo caracterizó física y químicamente. La composición química del suero se realizó en el equipo Lactoscan y sus resultados fueron: Grasa 0,53%; SNG 6,34%; Densidad 24,23%; Proteína 2,31%; Lactosa 3,45% y Agua 94,80% y tuvo 10°Dornic de acidez. Se utilizó levadura liofilizada (*Saccharomyces cerevisiae*) de dos marcas comerciales, La Reposterita (ecuatoriana) y Saf-Instant (mexicana) esta última está compuesta además por monoestearato de sorbitán el cual actúa como emulsificante y estabilizante. La velocidad de actividad de la levadura en la fermentación se valoró en condiciones experimentales idénticas en cuanto a las mezclas y la cantidad de levadura utilizada, se trabajó a temperatura ambiente. Las especificaciones de calidad para las características físico-químicas del suero de leche puede determinar el destino último del subproducto para la producción de alimentos tanto para el consumo animal como humano.

Las levaduras en sus diferentes marcas comerciales fueron utilizadas a razón de 1g/litro de mosto. Los parámetros de control durante la fermentación y maduración de la bebida fueron °Brix, pH y Acidez titulable, al finalizar la fase de maduración la bebida obtuvo 11°GL con 9°Brix.

El análisis sensorial se llevó a cabo con un panel de 20 catadores no entrenados, estos resultados permitieron determinar que el mejor tratamiento fue a1b1 (50% de suero de queso y 50% de jugo de caña), la levadura utilizada en esta fermentación Saf-Instant; la bebida obtenida tiene buenas

características organolépticas, su costo de venta al público será de 2,98 dólares incluido el 30% de utilidad.

La calidad del producto obtenido está dentro de los parámetros establecidos por las normas INEN.

Por lo que se aspira que las personas prefieran bebidas que se dan por fermentación alcohólica a las que se expenden en el mercado en base a mezclas con alcohol etílico.

INTRODUCCIÓN

Los altos volúmenes de producción de suero de queso que se da en todo el mundo y en Ecuador son causantes de contaminación ya que el suero al no ser procesado es desechado en ríos y alcantarillas, el contenido de vitaminas y minerales de este subproducto, el alto tenor de lactosa por lo que no debe tirarse como desperdicio residual, sino que debe aplicarse a la alimentación del ganado y a la nutrición humana.

El bajo costo de obtención, y el escaso aprovechamiento industrial, hacen posible su utilización y justifican, por lo tanto, la realización de las investigaciones pertinentes en la elaboración de una bebida fermentada.

La actividad quesera tanto por métodos tradicionales como modernos inevitablemente produce una gran cantidad de suero (aproximadamente el 83% de volumen de leche usado) y resulta difícil divorciar el destino del suero de la tecnología del queso, porque la eliminación del suero es una importante consideración industrial.

Históricamente, los estudios sobre microbiología enológica se han centrado en las levaduras pertenecientes al género *Saccharomyces*, que son las responsables de la fermentación alcohólica.

Los objetivos de este trabajo fueron aprovechar el suero de queso en la obtención de una bebida fermentada a partir de mezclas con jugo de caña (*Saccharum officinarum*), junto con las principales características sensoriales, físico – químicas, microbiológicas y el respectivo análisis económico en el mejor tratamiento.

METODOLOGÍA

CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA DEL SUERO DE QUESO

En el presente trabajo se utilizó suero de queso con 10 °Dornic de acidez el cual es aceptable para la bebida, fue adquirido en Pillaro en una de las empresas dedicadas a la elaboración de queso fresco, el mismo que fue previamente pasteurizado para poder vendérselo a otra empresa dedicada a emplear el suero en bebidas lácteas, fue caracterizado en el equipo LACTOSCAN el cual nos dio los siguientes valores de composición: Grasa: 0.53%; Densidad 1.024; lactosa 3.45; SNG 6.34; Proteína 2.31; % de Agua 94.8, su olor y color son característicos.

El jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) tuvo 18 °Brix su color, olor y sabor fueron característicos, el jugo de caña fue comprado en el mercado de nominado “Asociación de productos nativos” de la ciudad de Baños en la provincia del Tungurahua.

Las levaduras liofilizadas de marca comercial Saf-Instant también están compuestas con monoestearato de sorbitán mientras que la levadura de marca La Reposterita no posee este conservante.

Obtención del mosto

Se realizaron las mezclas del suero de queso y el jugo de caña en los siguientes porcentajes 75% - 25%; 50% - 50% y 25% - 75% respectivamente. Se adiciono Metabisulfito 100 ppm y se dejo en reposo por 24 horas.

Fermentación

Como bioreactores para la fermentación se utilizaron envases con capacidad de 10 litros.

Para la fermentación se realizo la inoculación de levaduras liofilizadas, en cantidad de 1g/L., se ajusto el mosto de suero de queso-jugo de caña a 23°Brix, y a lo largo del proceso se realizaron mediciones de pH, °Brix y acidez total.

Rendimientos en las bebidas suero de queso-jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*)

Los tratamientos con levaduras liofilizadas de marca comercial La Reposterita en las mezclas: 75% Suero de queso - 25%Jugo de caña, 50% Suero de queso - 50% Jugo de caña y 25% Suero de queso - 75% Jugo de caña; tienen rendimientos de: 72,7%; 70,9%; 70,5% respectivamente; mientras que las mezclas con levaduras liofilizadas de marca comercial Saf-Instant tienen los siguientes rendimientos 73,6; 72,6 y 72,2 respectivamente por lo tanto diremos que la levadura liofilizada Saf-Instant da mejores rendimientos.

Análisis sensorial

Se llevo a cabo pruebas sensoriales para evaluar el color, olor, sabor, sabor extraño y aceptabilidad de la bebida fermentada de suero de queso-jugo de caña de azúcar, se utilizó una escala hedónica de 5 puntos: las calificaciones de 1 para la puntuación más baja y 5 para la más alta.

Análisis sensorial de diferenciación entre los tratamientos a1b1 y a1b2

Mediante el análisis de varianza, se evidencio que existe diferencia significativa en los atributos color, olor, sabor, sabor extraño y aceptabilidad. El mejor tratamiento a1b1 con levadura Saf-Instant 1g/L con mezcla (50% suero de queso – 50% jugo de caña).

Análisis en el mejor tratamiento a1b1

Se realizaron los siguientes análisis físico – químicos: metanol, etanol, alcoholes superiores, aldehídos, esterres y furfural; análisis microbiológicos (recuento de mohos, levaduras y coliformes totales).

| Muestra | Ensayos solicitados | Métodos utilizados | Unidades | Resultados |
|--------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|----------|------------|
| a1b1 50% Suero - 50% Jugo de caña | Grado Alcohólico | INEN 0340-94 | °GL | 11 |
| | Metanol | INEN 0347-78 | mg/100cc | <0.001 |
| | Alcoholes Superiores | INEN 0341-78 | mg/100cc | 271.98 |
| | Aldehidos | INEN 0343-78 | mg/100cc | 0.05 |
| | Esteres | INEN 0342-78 | mg/100cc | <0.01 |
| | Furfural | INEN 0344-78 | mg/100cc | 0.03 |
| | Mohos, Levaduras y Coliformes totales | AOAC 991.02 991.14 | UFC/ml | <10 |

Resultados: Laboratorio Multianalityca

Estabilidad de la bebida fermentada

La bebida fermentada de suero de queso-jugo de caña, fue incubado a temperatura ambiente (20,5 °C) según las Normas AOAC, con una humedad relativa (52%HR) por un tiempo de 7 días. Tiempo en el cual no presento alteraciones. Mostró ausencia en el recuento de mohos, levaduras y coliformes totales, por lo cual su estabilidad se ajusto a las normas internacionales AOAC, se resalta que la bebida fue obtenida en condiciones adecuadas de proceso por lo tanto tiene condiciones de calidad para ser consumida.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase de Fermentación:

°Brix: El proceso de fermentación del mosto se inicia con 23°Brix en todos los tratamientos y el cual tuvo una duración de 27 y 29 días indistintamente en los tratamientos, a excepción del tratamiento a1b2 que culmina la fase de fermentación a los 24 días, tiempo en el cual el consumo de azúcar se detuvo.

Se puede observar en el Grafico C-1 que el descenso del ° Brix es similar pero Mediante el análisis de varianza se puede manifestar que existe diferencia significativa en los tratamientos con un nivel de significancia 5%.

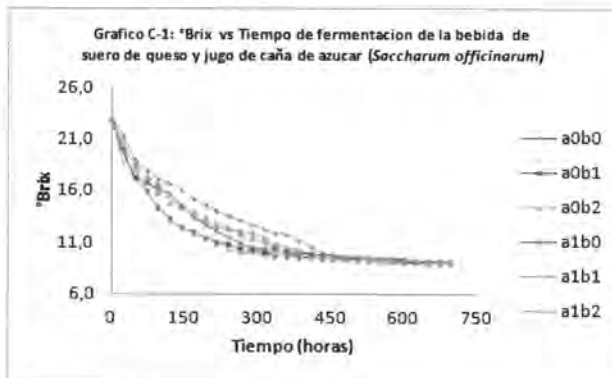


Tabla DMS para Sólidos Solubles (°Brix) en la Interacción (Levadura liofilizada* Mezcla)

| Levaduras | Mezcla | Medias | n | G. H. |
|----------------|------------|--------|---|-------|
| Saf-Instant | 75%S-25%JC | 9,20 | 4 | A |
| La Reposterita | 25%S-75%JC | 9,20 | 4 | A |
| Saf-Instant | 50%S-50%JC | 9,10 | 4 | A |
| Saf-Instant | 25%S-75%JC | 9,00 | 4 | B |
| La Reposterita | 75%S-25%JC | 9,00 | 4 | B |
| La Reposterita | 50%S-50%JC | 9,00 | 4 | B |

En el proceso fermentativo podemos observar que la levadura La Reposterita en las mezclas 50% Suero - 50%Jugo de Caña y en la 75% Suero - 25% Jugo de Caña está el mayor descenso de sólidos solubles con una media de 9,0 °Brix mientras que la misma levadura en la mezcla 25% Suero - 75% Jugo de caña tiene un descenso hasta 9,2 °Brix; la levadura Saf-Instant en las mezclas 25% Suero - 75% Jugo de caña y 75% Suero -25% Jugo de caña tiene un descenso hasta 9,2 °Brix mientras que en la mezcla 50% Suero - 50% Jugo de caña tiene un descenso de hasta 9,1°Brix

Los cambios de pH en el proceso de fermentacion se pueden observar en el grafico C-2

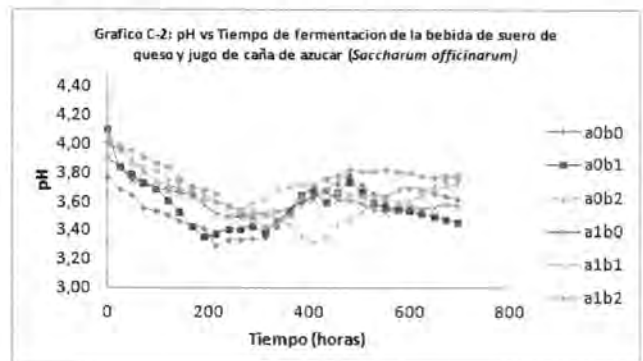


Tabla DMS para pH en la Interacción (Levadura liofilizada*Mezcla).

| Levaduras | Mezcla | Medias | n | G. H. |
|----------------|------------|--------|---|-------|
| La Reposterita | 25%S-75%JC | 3,80 | 4 | A |
| Saf-Instant | 25%S-75%JC | 3,77 | 4 | B |
| Saf-Instant | 50%S-50%JC | 3,72 | 4 | C |
| La Reposterita | 75%S-25%JC | 3,62 | 4 | D |
| Saf-Instant | 75%S-25%JC | 3,55 | 4 | E |
| La Reposterita | 50%S-50%JC | 3,46 | 4 | F |

Durante el seguimiento del periodo fermentativo el valor del pH en cuanto a la interacción (levadura liofilizada*mezcla); (La Reposterita y 25% Suero - 75% Jugo de caña) a0b2 con una media igual a 3,80; (Saf-Instant y 25% Suero - 75% Jugo de caña) a1b2 con una media de 3,77; (Saf-Instant y 50% Suero - 50% Jugo de caña) a1b1 con una media igual a 3,72

(La Reposterita y 50% Suero - 50% Jugo de caña) a0b1 con una media igual a 3,46. Mientras que en la interacción (La Reposterita y 75% Suero - 25% Jugo de caña) a0b0 con una media de 3,62, y en la interacción (Saf-Instant y 75% Suero - 25% Jugo de caña) a1b0 tuvo una media de 3,77.

Estos valores de pH, son importantes por su efecto sobre los microorganismos, el color, sabor, la acción de SO₂ y el potencial redox.

El pH está relacionado con la resistencia a enfermedades, con el color y el enturbiamiento presente en bebidas fermentadas. Se manifiesta que los valores de pH de la bebida suero de queso-jugo de caña se encuentran dentro de la norma establecida.

La Acidez Total vs el Tiempo en el proceso de fermentación se puede observar en el gráfico C-3

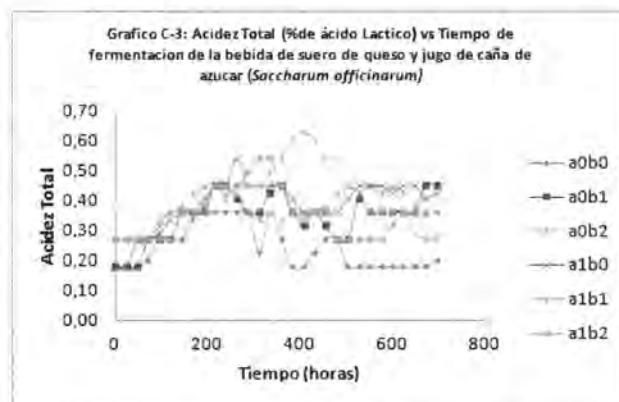


Tabla DMS para la variable acidez total (% ácido láctico) en la interacción (Levadura liofilizada*Mezcla) en la fase de fermentación.

| Levaduras | Mezcla | Medias n | G. H. |
|----------------|------------|----------|-------|
| La Reposterita | 50%S-50%JC | 0,45 | 4 A |
| Saf-Instant | 75%S-25%JC | 0,43 | 4 A B |
| Saf-Instant | 25%S-75%JC | 0,36 | 4 B C |
| La Reposterita | 25%S-75%JC | 0,29 | 4 C D |
| Saf-Instant | 50%S-50%JC | 0,27 | 4 D E |
| La Reposterita | 75%S-25%JC | 0,20 | 4 E |

Durante el seguimiento del periodo fermentativo el valor de acidez total en cuanto a la interacción (levadura liofilizada*mezcla) diremos la levadura liofilizada de marca comercial "La Reposterita" en la mezcla 75% Suero - 25% Jugo de caña es quien tiene menor porcentaje de ácido láctico con un valor de 0,20, cuando en las mezclas 50% Suero -

50% Jugo de caña y 25% Suero - 75%Jugo de caña tienen los siguientes valores 0,43 y 0,29 respectivamente, mientras que con la levadura liofilizada de marca comercial "Saf-Instant" en las mezclas 75% Suero - 25% Jugo de caña, 25% Suero - 75%Jugo de caña y 50% Suero - 50% Jugo de caña se reportan las siguientes medias respectivamente 0,43, 0,36 y 0,27. Los valores de acidez se encuentran bajo las normas establecidas.

Fase de Maduración:

°Brix: Al realizar el análisis de varianza efectuado sobre los valores de °Brix al finalizar la fase de maduración y al observar que los valores reportados con un nivel de significancia de 0,05, se determinó que existe diferencia significativa en la interacción (levadura liofilizada*mezcla) lo cual se reporta en la siguiente tabla.

| Levaduras | Mezcla | Medias n | G. H. |
|----------------|------------|----------|-------|
| Saf-Instant | 75%S-25%JC | 9,20 | 4 A |
| La Reposterita | 25%S-75%JC | 9,20 | 4 A |
| Saf-Instant | 50%S-50%JC | 9,10 | 4 A B |
| Saf-Instant | 25%S-75%JC | 9,00 | 4 B |
| La Reposterita | 75%S-25%JC | 9,00 | 4 B |
| La Reposterita | 50%S-50%JC | 9,00 | 4 B |

pH: Al realizar el análisis de varianza efectuado sobre los valores de °Brix al finalizar la fase de maduración y al observar que los valores reportados con un nivel de significancia de 0,05, se determinó que existe diferencia significativa en la interacción (levadura liofilizada*mezcla) lo cual se reporta en la siguiente tabla.

| Levaduras | Mezcla | Medias n | G. H. |
|----------------|------------|----------|-------|
| Saf-Instant | 25%S-75%JC | 3,91 | 4 A |
| La Reposterita | 25%S-75%JC | 3,86 | 4 B |
| Saf-Instant | 50%S-50%JC | 3,84 | 4 B |
| La Reposterita | 50%S-50%JC | 3,75 | 4 C |
| Saf-Instant | 75%S-25%JC | 3,73 | 4 C |
| La Reposterita | 75%S-25%JC | 3,73 | 4 C |

Al realizar la prueba de (DMS) con un nivel de significancia 0,05; de los datos reportados, se desprenden que la bebida fermentada de suero de queso y jugo de caña de azúcar con mayor incidencia en el pH, en la interacción (levadura liofilizada* mezcla), la levadura liofilizada de marca comercial La Reposterita con mezclas 75% Suero - 25% Jugo de caña, 50% Suero - 50% Jugo de caña y 25% Suero - 75%Jugo de caña, tiene los siguientes promedios 3,73; 3,75 y 3,86 respectivamente; mientras que la interacción de la levadura liofilizada de marca comercial Saf-Instant y el mismo tipo de mezclas respectivamente se encuentra en una media de 3,73; 3,84 y 3,91 respectivamente.

Acidez Total: Al realizar el análisis de varianza efectuado sobre los valores de acidez total al finalizar la fase de maduración y al observar que los valores reportados con un nivel de significancia de 0,05, se determinó que existe diferencia significativa en la interacción (levadura liofilizada*mezcla) lo cual se reporta en la siguiente tabla.

| Levaduras | Mezcla | Medias n | G. H. |
|----------------|------------|----------|-------|
| La Reposterita | 50%S-50%JC | 0,52 | 4 A |
| Saf-Instant | 75%S-25%JC | 0,45 | 4 B |
| La Reposterita | 25%S-75%JC | 0,45 | 4 B |
| Saf-Instant | 25%S-75%JC | 0,36 | 4 C |
| Saf-Instant | 50%S-50%JC | 0,36 | 4 C |
| La Reposterita | 75%S-25%JC | 0,36 | 4 C |

Al realizar la prueba de (DMS) con un nivel de significancia 0,05; de los datos reportados, se desglosa que la bebida fermentada de suero de queso y jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) con menor acidez total (% ácido láctico) se presentan en las dos marcas comerciales de levadura liofilizada en La Reposterita en la mezcla 75% Suero - 25% Jugo de caña con un valor de 0,36 mientras que este valor lo tenemos en las mezclas 25% Suero - 75% Jugo de caña, 50% Suero - 50% Jugo de caña con Saf-Instant, a continuación se indica que en las mezclas 25% Suero - 75% Jugo de caña, 50% Suero - 50% Jugo de caña con La Reposterita tenemos los siguientes valores promedio 0,45 y 0,52 respectivamente, mientras que en la mezcla 75% Suero - 25% Jugo de caña con Saf-Instant tiene un valor de 0,45.

Análisis sensorial

El éxito de un producto o un proceso agroalimentario reside en su capacidad de alcanzar el nivel de calidad que demandan los consumidores. El aspecto, el color, el sabor y la textura, son entre otros, elementos determinantes en la elección de los productos alimentarios de manera cotidiana. El Análisis Sensorial evalúa estas propiedades a través de la información que aportan los propios consumidores (jurados no entrenados) y jurados entrenados de cata. (35)

Gráficamente podemos observar que existe diferencia significativa en los tratamientos en la variable aceptabilidad lo cual se representa en el grafico C-11.

Grafico C-11: Atributo Aceptabilidad para Tratamientos

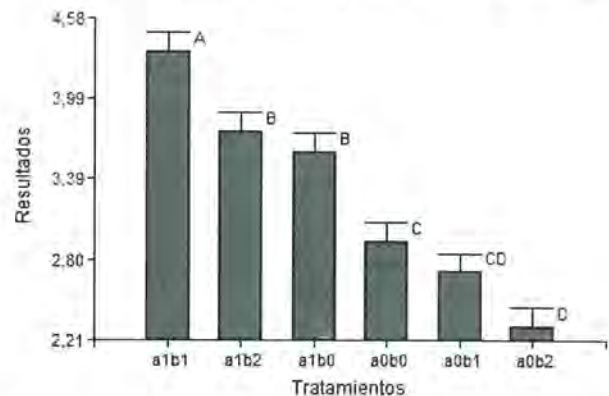


Tabla DMS para el atributo aceptabilidad en las bebidas suero de queso - jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en sus diferentes tratamientos.

| Tratamientos | Medias n | Grupos Homogéneos |
|--------------|----------|-------------------|
| a1b1 | 4,34 20 | A |
| a1b2 | 3,75 20 | B |
| a1b0 | 3,60 20 | B |
| a0b0 | 2,94 20 | C |
| a0b1 | 2,71 20 | C |
| a0b2 | 2,31 20 | D |

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia del 0,05; se evidencio que existen 4 grupos homogéneos teniendo que la mejor calificación para aceptabilidad esta en el tratamiento a1b1, con una media igual a 4,34 formando el primer grupo, el segundo grupo lo forman los tratamientos a1b0, a1b2 con una media de 3,60 y 3,75 respectivamente, el tercer grupo lo forman los tratamientos a0b0, a0b1 con una media de 2,94 y 2,71 respectivamente siendo las calificaciones bajas para aceptabilidad pero la calificación más baja para este atributo es el cuarto grupo y esta en el tratamiento a0b2 con una media de 2,31 lo que quiere decir que está es la menos aceptada, .

Para la elección del mejor tratamiento se realizó nuevamente análisis sensorial con los tratamientos a1b1 y a1b2 que a pesar de tener diferencia significativa se lo toma en cuenta por ser el valor más cercano al mejor tratamiento para determinar si realmente el tratamiento a1b1 es el mejor, esto se puede observar en el siguiente grafico (C-16)

Grafico C-16: Atributo Aceptabilidad de preferencia para mejor tratamiento

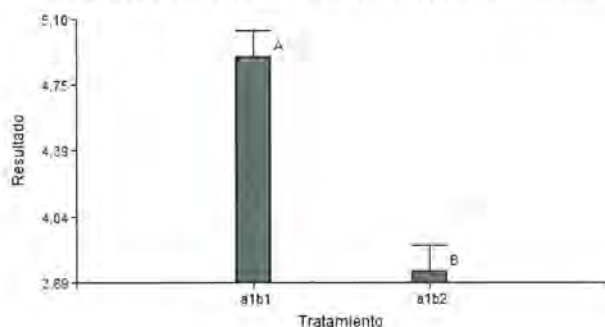


Tabla DMS en el atributo Aceptabilidad en las dos mejores bebidas de suero de queso - jugo de caña de azúcar (Saccharum officinarum) para determinar el mejor tratamiento.

| Tratamiento | Medias | n | Grupos Homogéneos |
|-------------|--------|----|-------------------|
| a1b1 | 4,90 | 20 | A |
| a1b2 | 3,75 | 20 | B |

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia del 0,05; reportado en la (Tabla B-14.1), se evidencio que el tratamiento a1b1, con una media igual a 4,90; mientras que el tratamiento a1b2, con una media igual a 3,75; existe diferencia significativa y se determino como mejor tratamiento a1b1, el cual está compuesto por levadura liofilizada de marca comercial Saf-Instant en la mezcla (50% Suero – 50% Jugo de Caña).

El 98% de los catadores calificaron al tratamiento a1b1, en con valor de 5 de la ficha de catación (Anexo F); se catalogó en el nivel de "Agrada mucho"; en comparación con el tratamiento a1b2 que tuvo una preferencia de 2% es decir lo calificaron con 4 que corresponde al nivel "Agrada poco".

Conclusiones

Se utilizó suero de queso previamente pasteurizado en la empresa de lácteos Píllaro además diremos que esta empresa también utiliza el suero de queso en la elaboración de bebidas lácteas, en el afán de evitar este tipo de situaciones con el estudio realizado obtuvimos una bebida fermentada de buenas características sensoriales se realizo tres mezclas

con jugo fresco de caña de azúcar (Saccharum officinarum) en diferentes porcentajes siendo el resultado favorable ya que en todas las mezclas la fermentación fue exitosa.

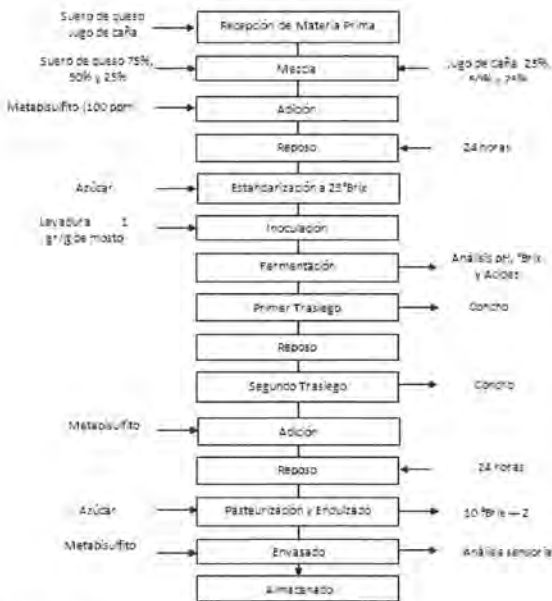
Se realizaron tres mezclas de la siguiente manera 75% de suero de queso – 25% de jugo de caña; 50% de suero de queso – 50% de jugo de caña y 25% de suero de queso – 75% de jugo de caña. A través del análisis sensorial realizado a un panel de catadores no entrenados utilizando una ficha de catación con escala hedónica de 5 puntos se evaluaron atributos tales como color, olor, sabor, sabor extraño, aceptabilidad, y de esta manera se estableció como mejor tratamiento debido a sus características organolépticas a la mezcla formada con 50% de suero de queso y 50% de jugo de caña de azúcar (Saccharum officinarum) ya que sus calificaciones fueron las mejores en todos los atributos de aceptabilidad.

Se utilizo levadura liofilizada La Reposterita que es una marca ecuatoriana, también se utilizo levadura liofilizada de marca comercial Saf-Instant que es mexicana, a través de los resultados físico-químicos y sensoriales fue notable la apreciación por parte de los catadores por la bebida fermentada formada con levadura Saf-Instant, a la vez diremos que numéricamente se muestra que también tiene mayor rendimiento con respecto a la otra marca comercial.

Se realizo el respectivo estudio económico a nivel de laboratorio en el mejor tratamiento a1b1, el cual está compuesto por 50% de suero de queso y 50% de jugo de caña de azúcar (Saccharum officinarum), tratamiento en el que se utilizo levadura liofilizada de marca comercial Saf-Instant; con el fin de conocer el costo de producción de esta bebida, utilizando el balance de materiales la botella de bebida "Cañisú" en una presentación de 750 ml. el costo de venta al público es de \$ 2,98 incluido el 30% de utilidad.

A través del análisis sensorial los valores obtenidos demuestran que el tratamiento con mejor aceptabilidad es el a1b1 (50%suero-50%jugo de caña) al cual se le realizaron análisis físico-químicos y microbiológicos, estos análisis señalan que la bebida cumple con los requisitos establecidos en las normas INEN para bebidas alcohólicas.

Diagrama de flujo para la elaboración de Bebida Fermentada con suero de queso y jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*)



Bibliografía

1.- Miranda Oscar, Fonseca Pedro, Ponce Isela, Cedeño Ciro, Sam Rivero Lourdes, Martí Libia. "Elaboración de una Bebida Fermentada a Partir del Suero de queso. Características Distintivas y Control de Calidad". Instituto de Investigaciones Agropecuarias Jorge Dimitrov. Bayamo Granma – Cuba

2.- Gonzales Carmiña, Fernández Mario. "Fermentación Alcohólica del Lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* y Solventes Organicos como Extractantes", Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2009, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. Coro, estado Falcón-Venezuela.

3.- Owen P, (1991), Biotecnología de las Fermentaciones, Editorial Acribia, Primera edición, Zaragoza-España, Pág. 1-2.

4.- RANKEN M. (1993), Manual de Industrias de los Alimentos, Editorial Acribia, Zaragoza-España, 672 Páginas.

5.- VALLEJO, R. 1982. "La Problemática del Sector agropecuario". Ed. Universitaria, Quito-Ecuador. 456 Páginas.

6.- Sefred Jorgensen, Klein Knappe, "Microbiología de las Fermentaciones", Ed. Acribia, Zaragoza - España, 386 Páginas.

7.- Mariño Ximena, Mejía Glenda, "Elaboración de una Bebida Fermentada en base a Suero Dulce de Queso y Harina de Maíz Germinado Chulpi (*Zea mays* var. *saccharata*)". Tesis F.C.I.A.L. # 271. Universidad Técnica de Ambato. Págs. 25 – 32

8.- Guzmán Juan, Cárdenas Sofía y Valdez Zaidy "Formulación de Bebidas Fermentadas Utilizando un Probiótico (*Lactobacillus Casei-Shirota*), Ezal y Diferentes Concentraciones de Miel y Polen". Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

9.- N. Echeverry, O. Quintero, M. Ramírez y H. Álvarez* "Control De Un Biorreactor Para Fermentación Alcohólica En Continuo", Universidad Nacional de Colombia, Medellín –COLOMBIA *Grupo de Automática de la Universidad Nacional (GAUNAL), Instituto de Automática y Procesos Industriales (IAPI)

10.- García. M., QUINTERO. R., LÓPEZ, A. 2002. "Biotecnología Alimentaria". Editorial. Limusa S.A. D.F. México. Pg. 34-56

11.- Diccionario del vino, "Fermentación-alcohólica" disponible en internet en htm.

12.- BARRIENTOS, JOSE E. , "Tratado Practico para la Elaboración de Queso". (Sus orígenes - clases - tipos). S.A. Editorial, Bell.

13.- Richard B. Kreider, PhD, EPC, FACSM, FASEP "La Nutrición del Adulto Mayor y las Proteínas de Suero de Leche", Profesor y Presidente del Comité, Departamentamento de Salud, Desempeño Humano y Recreación Centro de Ejercicios, Nutrición y Salud Preventiva, Universidad de Baylor.

14.- ATLITEC M. CORTÉS M. GUEVARA E. SÁNCHEZ L. SÁNCHEZ M. VALLES E., "Bebida a base de suero de leche Deslactosada con Frutas enriquecida con omega 3".

15.- Gómez R., González G. Mejía A., Ramírez A. "Proceso biotecnológico para la obtención de una bebida refrescante y nutritiva", Facultad de Ingeniería UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA. Apartado 1226 Medellín, Colombia.

16.- Valencia E., Ramírez M., "La industria de la leche y la contaminación del Agua", Maestría en Ingeniería, Instituto Tecnológico de Puebla, Departamento de Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica.

17.- R. SCOTT, "Fabricación de Queso", 2da ed. Ed. Acribia, Zaragoza –España.

18.- CARBONELL R. Mateo, "Aguardientes, Licores y Aperitivos", ed. Sintet, Barcelona-España.

- 19.- Miranda O.,¹ Ponce L.,¹ Fonseca P.,² Cutiño M.3 Díaz R.,⁴ Cedeño C.,⁵ "Características físico - químicas de sueros de queso Dulce y ácido producidos en el combinado de quesos de Bayamo".
- 20.- Gutiérrez F. E. "Desarrollo de una bebida de suero dulce derivado de la fabricación de queso fresco, fermentada con cultivos *Lactobacillus helveticus* y *Streptococcus salivarius*, var *thermophilus* (TCC-20), adicionada con cultivos prebióticos *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LC-01", Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Escuela de tecnología de Alimentos.
- 21.- DEL POZO Freddy- VALENCIA Alex (2004). Establecer una tecnología para la obtención de una bebida alcohólica a partir de Maíz (*Zea mays* variedad morochon). Tesis 321-FCIAL- UTA. Pg. 36-38
- 22.- FORSYTHE, S. J. (1999). Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP.
- 23.- Sueiro RA et al., 2001: Evaluation of Coli-ID and MUG Plus media for recovering *Escherichia coli* and other coliform bacteria from ground water samples. *Water Science and Technology*, 43:213-216
- 24.- FDA. 1998. *Bacteriological Analytical Manual*, 8 ed., Revision A, Appendix 3.64.
- 25.- Miralles B. "Detección de caseinato y suero en leche y productos lácteos mediante técnicas Electroforéticas, cromatográficas y Espectroscópicas", Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia, Departamento de Nutrición y Bromatología.
- 26.- Publicación diario Hoy el 31 de Diciembre del 2010, formato htm disponible en internet.
- 27.- MERCOSUL\GMC\RES N° 77/94 "Definições Relativas As Bebidas Alcoólicas", Tendo Em Vista: o Art. 13 do Tratado de Assunção, o Art. 10 da Decisão N° 4/91 do Conselho do Mercado Comum, a Resolução N° 91/93 do Grupo Mercado Comum, e a Recomendação N° 31/94 do SGT N° 3 - "Normas Técnicas".
- 28.- Documento en pdf "Plan Rector Del Sistema Producto Caña De Azúcar, Diagnóstico Del Sistema Producto Caña De Azúcar"
- 29.- Liliana Serna Cock / Aida Rodríguez de Stouvenel, "Jugo De Caña Verde Como Sustrato En La Producción Fermentativa Por Lotes De Ácido Láctico", *Revista Colombiana de Biotecnología*, diciembre, año/vol. VI, número 002. Págs. 37-42
- 30.- RANKINE Bryce. 2000. *Manual práctico de Enología*. Tercera edición. Edt. Acribia. Zaragoza-Es.pg. 156-304.
- 31.- MEILGAARD, C, 1991. *Sensory Evaluation Techniques*, segunda edición.CRC Press LLC. Pg. 354 – 356.
- 32.- HERNANDEZ, Elizabeth "Evaluación Sensorial", Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, Facultad De Ciencias Basicas E Ingeniería. Pág. 12
- 33.- Spreer, E.1975 "Lactología Industrial". Segunda Edición. Editorial Acribia. Zaragoza – España. Págs. 381-385
- 34.- Suarez, J. "Impacto de Levaduras y Bacterias en los aromas vínicos fermentativos".
- 35.- Comité Técnico de Normalización de Análisis Sensorial (CTN/87, Análisis Sensorial).
- 36.- SALTOS Aníbal. 1993. *Bebidas Fermentadas Típicas: Sidras de Manzana Tungurahueses*. Proyecto PIAHIB – FCIAL _ UTA. Pg. 4- 20.

APROVECHAMIENTO DE LA ZANAHORIA AMARILLA (*Daucus carota*) TRATADA ENZIMÁTICAMENTE EN LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA TIPO VINO.

ANGEL IZA Y.; GLADYS NAVAS MIÑO
Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
izayug@hotmail.com; glacenam@hotmail.com

RESUMEN

Esta investigación permite el aprovechamiento de la zanahoria amarilla de tipo Chantenay Red Cored tratada enzimáticamente en la obtención de una bebida tipo vino. Las enzimas pectolíticas "Pectinex ultra SPL y Ultrazym AFPL" mejoran la extracción, clarificación del jugo de zanahoria que es mezclado con jugo de naranja dulce (*Citrus sinensis* Osbeck) para obtener mosto limpio.

Se realizó la caracterización de la zanahoria amarilla y naranja dulce, se tomó el peso de cada muestra, se midieron: el diámetro, largo, grados brix, pH, acidez y estado de madurez en base al color.

Durante la fermentación y maduración de la bebida fermentada de moderación; se evaluaron: °Brix, pH, Acidez total, Absorbancia a 420nm.

Al efectuar el análisis sensorial con 30 panelistas y tres replicas se encontró a los dos mejores tratamientos: a2b2 y a1b1 posteriormente se realizó la diferenciación; según el análisis de varianza se determinó que existe diferencia significativa (alfa 5%). El mejor tratamiento fue a2b2: enzima Ultrazym AFPL y mezcla de jugos 50%zanahoria-50%naranja; la bebida reúne estándares de calidad y alcanza una buena aceptabilidad por parte de los catadores. Al mejor tratamiento realizamos análisis cromatográficos: metanol, etanol (°GL), alcoholes superiores; y cenizas; también se realizó análisis microbiológicos: recuento de mohos y levaduras; se efectuó el respectivo estudio económico al mejor tratamiento.

INTRODUCCION

La zanahoria amarilla (*Daucus carota*) es una hortaliza muy extendida en los valles interandinos. Según el III censo Nacional Agropecuario (2000) la superficie destinada al cultivo de zanahoria fue de 2932Ha, con una producción de 18351TM; siendo las principales áreas productivas las provincias de Chimborazo (1443) y Cotopaxi (666Ha).

La variedad Chantenay Rey Cored tiene raíces de forma cónica y hombros anchos. La longitud varía de 14 a 16 cm, el diámetro es de 5 a 6 cm. El follaje es grande, erecto y abundante, es de madurez mediana o tardía, se la utiliza para mercado fresco, posee amplia adaptación.

Su nombre científico es *Daucus carota*, subespecies *sativus*, pertenece a la familia de las Umbelíferas, también denominadas Apiáceae.

Su color característico naranja se debe a la presencia de carotenos, entre ellos el beta-caroteno o provitamina A, pigmento natural que el organismo transforma en vitamina A, conforme la necesita. Así mismo es fuente de vitamina E y vitaminas del grupo B y vitaminas B3 o niacina. En cuanto a los minerales destaca el aporte de potasio, y cantidades discretas de fósforo, magnesio, yodo y calcio; los beneficios que brinda esta hortaliza son de gran ayuda para el ser humano, esta presente en la dieta diaria de las personas.

La naranja dulce (*Citrus sinensis* Osbeck) es una de las frutas más populares y saludables del mundo. Tiene un alto contenido de vitamina C. Su sabor en algunas variedades es realmente soberbio por su acidez y dulzura.

Propiedades y beneficios

- La naranja es la fruta por excelencia que se consume por su alto contenido de vitamina C.
- Por su alto contenido en Vitamina C es uno de los mejores antioxidantes.
- La vitamina C, ayuda también a quemar grasas.
- Ayuda a prevenir la arteriosclerosis.

Pectinex ultra SPL es un complejo enzimático pectolítico altamente activo, se produce por una cepa seleccionada de *Aspergillus aculeatus*. El preparado enzimático contiene actividad pectolítica y diversas actividades hemicelulíticas. Capaces de degradar las paredes celulares de las plantas.

Ultrazym AFPL es una preparación de enzimas altamente activas espectro pectolítico y actividad celulítica, la preparación de la enzima es producida por fermentación sumergida de *Aspergillus niger* y el hongo *Trichoderma reesei*, no han sido genéticamente modificados. Esta preparación enzimática reduce la viscosidad en los extractos de los vegetales.

En su presentación es un líquido pardo y tiene un pH aproximado de 5, y la densidad es aproximadamente de 1,2g/ml; actúa a un pH de 3,5.

Este preparado enzimático ablanda los tejidos de: manzanas y peras, es ideal para la desintegración completa de pectinas y las paredes celulares de las frutas.

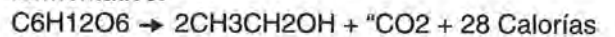
Entre las principales ventajas que se logran, al emplear estas enzimas se puede citar:

- Mejora la extracción del zumo, aumenta el rendimiento global del mismo.
- Reduce tiempos de prensado
- Libera componentes fundamentales de color, aroma, por fermentación de la pulpa.
- Facilita la clarificación en mostos y vinos.

La levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*), hongo unicelular, es un tipo de levadura activa, muy utilizado en fermentaciones industriales, metaboliza azúcares como: sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa y maltotriosa. Se divide por gemación y puede tener una reproducción asexual cuando se encuentra en su forma haploide, y de manera sexual cuando a partir de un cigoto se forma un asca que contiene cuatro ascosporas haploides (Atkinson y Mavitts, 1991).

La fermentación alcohólica es el desdoblamiento del azúcar en alcohol y dióxido de carbono, como consecuencia de la vida y desarrollo de un organismo particular, el fermento alcohólico o levadura. (Kretschmar, 1961).

Según Gay – Lussac el esquema de proceso fermentativo:



El objetivo principal del presente trabajo es aprovechar la zanahoria amarilla (*Daucus carota*) tratada enzimáticamente cuyo jugo es mezclado con jugo de naranja para la obtención de una bebida tipo vino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Zanahoria amarilla variedad Chantenay Red Cored, fue adquirida de la parroquia Santa Rosa de la provincia de Tungurahua.

Naranja dulce, fue adquirido en el mercado mayorista de la ciudad de Ambato de la provincia de Tungurahua.

Las enzimas pectolíticas "Pectinex ultra SPL (0,025ml/L) y Ultrazym AFPL (0,025ml/l)" fueron adquiridos en Quifatex S.A- Quito.

Obtención del jugo

Se utilizó zanahoria amarilla, adquirida en el mercado de la parroquia Santa Rosa, Provincia de Tungurahua, las mismas que fueron sumergidas en una solución de metabisulfito de sodio (150ppm) para disminuir la carga microbiana. A zanahorias troceadas se añadió agua 50%peso/volumen en los dos tratamientos; al 1er tratamiento se adiciono enzima pectinex ultra SPL en cantidad de 0,025ml/kg y al 2do tratamiento se aplico enzima ultrazym AFPL. El jugo se obtuvo utilizando un extractor.

Obtención del mosto

Se realizaron las mezclas de jugos: 25% jugo de zanahoria-75% jugo de naranja; 50% jugo de zanahoria-50% jugo de naranja; 75% jugo de zanahoria-25% jugo de naranja; a los que se adiciono metabisulfito de sodio 100ppm por un tiempo de 24 horas, para disminuir la carga microbiana que pueden competir con las levaduras.

Fermentación

En el inicio de la fermentación se ajusto el mosto 23°Brix; se midió pH 4,15-4,17 acidez total 0,46-0,54 y absorbancia 1.11-1.34 a 420nm en mostos de zanahoria-naranja. Se inoculó levadura liofilizada *Saccharomyces cerevisiae* 1g/L.

El mosto se deposito en reactores de plástico con capacidad de 10 litros. La primera etapa de la fermentación se extendió por un periodo de 23 días.

Grados brix

Para la medición de sólidos solubles a lo largo de la fermentación se tomaron unas gotas del líquido a medir sobre el prisma del refractómetro RHB-32 ATC con un rango 0-32°Brix y se toma la lectura directamente.

pH

Para la determinación del pH se utilizó un pH-metro digital marca HAANA 0.00-14.00, el cual previamente al análisis se calibra con solución buffer 7, luego se introduce el electrodo en el líquido y se toma la lectura directa.

Acidez total

La acidez total está considerada como la suma total de los ácidos titulable obtenidas cuando se lleva la bebida alcohólica a neutralidad (pH 7.00), por adición de una solución alcalina.

Procedimiento:

- Viértase en un vaso de precipitación 1ml de muestra y añadir 9ml de agua destilada.
- Se añaden 2-3 gotas de fenolftaleína.
- Se vierte gota a gota desde la bureta la solución de hidróxido de sodio 0.1N sobre el mosto situado en el vaso, agitando constantemente hasta la aparición uniforme del color rosa del indicador, que indica la neutralización de los ácidos.
- Se toma lectura de los mililitros y décimas gastados de la solución de (NaOH)0.1N, este valor se debe multiplicar por 0.064 (factor para expresar la acidez en ácido cítrico), donde la cantidad resultante es los ácidos totales contenidos en el mosto y expresados en ácido cítrico. (Carbonell, mateo. 1970).

Cálculos:

$$\% \text{ Ácido cítrico} = (0,064)(dHNaOH)(N)(100)(g)/p(g)$$

Dónde:

0,064 = peso equivalente del ácido cítrico
(dHNaOH)= ml de NaOH necesarios para titular la muestra

N= Normalidad de NaOH (0.1N)

p = peso de la muestra

Absorbancia

La absorbancia es el grado de absorción de la luz o de otra energía radiante a su paso a través de un medio, el color de las sustancias se deben a que estas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que inciden sobre ellas y solo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbidas.

Procedimiento

Seleccionar la longitud de onda 420nm, Añadir 1ml del mosto, realizar un blanco con agua destilada, realizar todas las medidas por duplicado.

Diseño Experimental

Se consideró un diseño experimental A*B (2*3) con tres replicas, con lo cual tenemos un total de 24 resultados que garantizan la confiabilidad de las diferentes determinaciones.

Factor A: Enzimas pectolíticas

a1 : Pectinex ultra SP-L (0,025ml/L)

a2 : Ultrazym AFPL (0,025ml/L).

Factor B: Mezcla de jugos

b1 : 25% zanahoria-75% naranja

b2 :50% zanahoria-50% naranja

b3 :75% zanahoria-25% Naranja

Hipótesis

Hipótesis Nula

La utilización de enzimas pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL antes de la fermentación no influye significativamente en el rendimiento de la extracción de jugo de zanahoria amarilla (*Daucus carota*), clarificación de mostos (mezcla jugo de zanahoria con jugo de naranja) para la obtención de una bebida tipo vino.

Hipótesis Alternativa

La utilización de enzimas pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL antes de la fermentación influye significativamente en el rendimiento de la extracción de jugo de zanahoria amarilla (*Daucus carota*), clarificación de mostos (mezcla jugo de zanahoria con jugo de naranja) para la obtención de una bebida tipo vino.

Rendimientos en los tratamientos

Para obtener el rendimiento de la bebida tipo vino al finalizar la fermentación, se procedió a dividir el peso de la bebida obtenido luego del trasiego para el peso inicial del mosto de zanahoria-naranja; y por 100.

$$RE = (W_f / W_i) * 100$$

Dónde:

(%) RE= rendimiento

Wf= Peso final de la bebida tipo vino

Wi= Peso inicial del mosto de la bebida tipo vino

Análisis sensorial

Mediante un panel de 30 catadores no entrenados; se evaluaron características organolépticas y el grado de aceptabilidad a partir de una escala hedónica de 5 puntos: los siguientes atributos color, olor, sabor, sabor extraño y aceptabilidad. De los resultados obtenidos se seleccionaron tratamiento a2b2: enzima ultrazym AFPL y mezcla 50% jugo de zanahoria-50% jugo de naranja y a1b1: enzima pectinex ultra SPL y mezcla 25% jugo de zanahoria-75% jugo de naranja.

Análisis sensorial de diferenciación entre los tratamientos a1b1 y a2b2

Se realizó mediante un panel de 20 catadores no entrenados. Que calificaron los siguientes atributos color, olor, sabor, sabor extraño, aceptabilidad; de los resultados obtenidos en tres replicas el mejor tratamiento fue a2b2 enzima Ultrazym AFPL 0,025ml/kg y mezcla 50%jugo de zanahoria – 50%jugo de naranja.

Análisis en los dos mejores tratamiento

Análisis cromatográfico: metanol y alcoholes superiores, según la norma INEN 2014. CG modificado, etanol (°GL) según la norma INEN 340; y cenizas según la norma INEN 348:78, como también análisis microbiológicos: recuento de mohos y levaduras según la AOAC 997.022005, Ed. 18

Estabilidad de la bebida tipo vino

En los dos mejores tratamientos se efectuó análisis microbiológicos las muestras a los 70 días de su elaboración. Se encubaron a 20,5 °C, a una humedad relativa 52%HR por 7 días. En ese lapso de tiempo hubo ausencia de mohos y levaduras.

RESULTADO Y DISCUSION

Materia prima

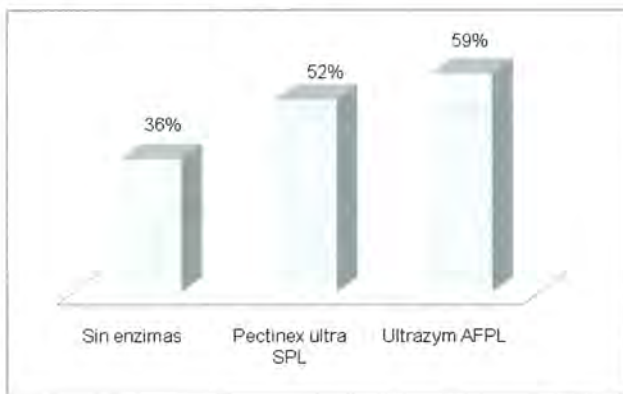
Se realizó la caracterización física de 20 zanahorias: peso (g) = 75,90; diámetro (cm) = 3,68; Largo (cm) = 8,01; grados brix = 7,02; pH = 6,56; acidez total (% ac.cítrico) = 0,021; color= naranja –brillante. Tiene las condiciones ideales la zanahoria para la elaboración de una bebida fermentada, que desarrolla aromas únicas al finalizar su proceso.

Se determino la caracterización física de 20 naranjas: peso (g) = 178,5; diámetro (cm) = 7,1; Largo (cm) = 6,8; grados brix = 10,4; pH = 3,32; acidez total (% ac.cítrico) = 1,08; color= característico.

Rendimiento en la extracción de jugo de zanahoria amarilla (*Daucus carota*).

Los valores de rendimiento varían entre 52-59% según la enzima utilizada. Como se puede observar en el Gráfico 1.

Gráfico 1.- % de Rendimiento en la extracción de jugo de zanahoria amarilla



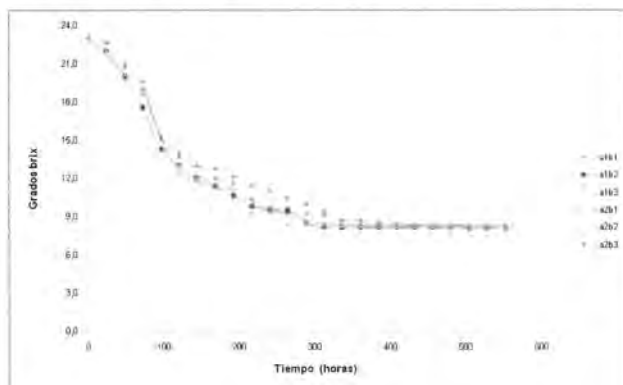
Se obtuvo jugo de naranja (*Citrus sinensis* Osbeck) de buenas características organolépticas.

Respuestas experimentales

Grados brix

Los valores de grados brix al finalizar la fermentación varía entre 8 y 8,1 °Brix en todos los tratamientos. Como se puede observar en el Gráfico 2.

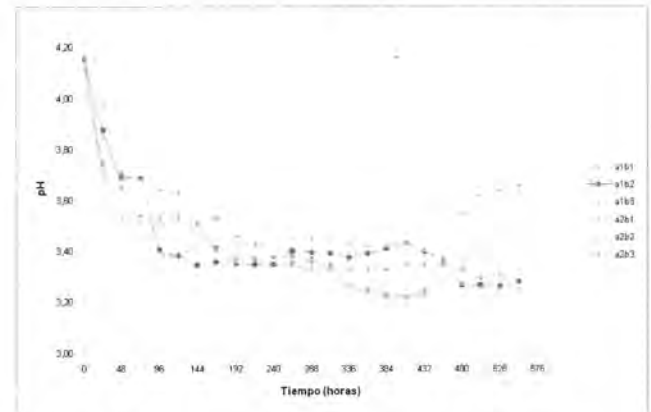
Gráfico 2.- Cambios de los grados Brix en el proceso de fermentación de la bebida: zanahoria-naranja.



pH

Los valores de pH al finalizar la fermentación varía entre 3,26-3,66 en todos los tratamientos. Gráfico 3.

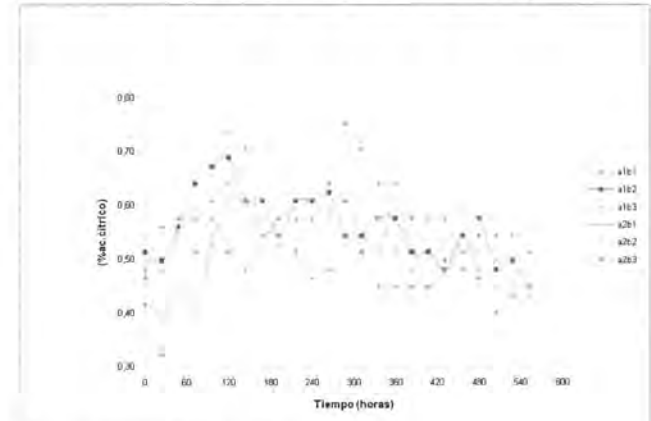
Gráfico 3.- Cambios del pH en el proceso de fermentación de la bebida: zanahoria-naranja.



Acidez total

En el proceso de fermentación los valores de acidez en cada uno de los tratamientos no presentan cambios significativos, al finalizar el proceso de la fermentación se presentan variaciones entre 0,43-0,51. Gráfico 4.

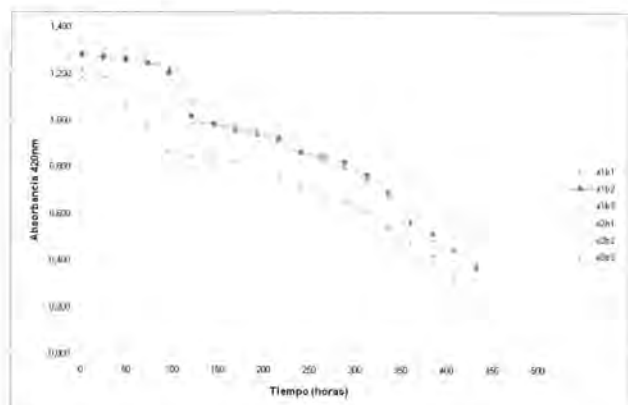
Gráfico 4.- Cambios de la acidez en el proceso de fermentación de la bebida: zanahoria-naranja.



Absorbancia a 420nm

Los valores de absorbancia a los 18 días de fermentación varía entre 0,25-0,39 en todos los tratamientos. Gráfico 5.

Gráfico 5.- Descenso de valores de absorbancia al transcurrir la fase de fermentación de la bebida: zanahoria-naranja.



Rendimientos en las bebidas zanahoria-naranja

Los valores de rendimiento en % de la bebida zanahoria-naranja al finalizar la fermentación se presenta variaciones entre 64%-72,95%. Gráfico 5.



Análisis en los dos mejores tratamiento

Tabla 1. Resultados obtenidos mediante; análisis cromatográficos: metanol, etanol ($^{\circ}$ GL), alcoholes superiores; y cenizas; análisis microbiológicos: recuento de mohos y levaduras.

| LABORATORIO DE LACONAL | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------------------|------------|
| Resultados Obtenidos | | | | |
| Muestra | Ensayos solicitados | Métodos utilizados | Unidades | Resultados |
| a ₂ b ₂ | Grado Alcohólico | INEN 340 | $^{\circ}$ G.L | 9 |
| | Metanol | INEN 2014 CG modificado | cm ³ /100cm ³ | 0.042 |
| | Alcohol Isopropílico | INEN 2014 CG modificado | cm ³ /100cm ³ | 18.4 |
| | Alcohol Isobutílico | INEN 2014 CG modificado | cm ³ /100cm ³ | 117.9 |
| | Alcohol Isoamílico | INEN 2014 CG modificado | cm ³ /100cm ³ | 662.4 |
| | Cenizas | INEN 348:78 | g/1000cm ³ | 2.6 |
| | Mohos y Levaduras | PE-02-5.4-MB | UFC/ml | <10 |
| a ₁ b ₁ | Grado Alcohólico | INEN 340 | $^{\circ}$ G.L | 9 |
| | Metanol | INEN 2014 CG modificado | cm ³ /100cm ³ | 0.030 |
| | Alcohol Isopropílico | INEN 2014 CG modificado | cm ³ /100cm ³ | 20.1 |
| | Alcohol Isobutílico | INEN 2014 CG modificado | cm ³ /100cm ³ | 120.3 |
| | Alcohol Isoamílico | INEN 2014 CG modificado | cm ³ /100cm ³ | 515.7 |
| | Cenizas | INEN 348:78 | g/1000cm ³ | 2.26 |
| | Mohos y Levaduras | PE-02-5.4-MB | UFC/ml | <10 |

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se utilizó zanahoria amarilla (*Daucus carota*) tratada enzimáticamente, en la obtención de una bebida tipo vino, por su elevado contenido en beta- caroteno o pro vitamina A; así mismo es fuente de vitamina E y de vitaminas del grupo B, vitamina B₁₂ o niacina, minerales: potasio, fósforo, magnesio, yodo y calcio; los beneficios que brinda esta hortaliza es de gran ayuda para el ser humano, en disminuir el riesgo de contraer cáncer en diversas partes del cuerpo. Aportando con ella una alternativa nueva y diferente de aplicación de la zanahoria, lo cual beneficia tanto al sector agrícola como a plantas procesadoras de bebidas de moderación.

Mediante el uso de las enzimas pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL en el proceso de extracción, se pudo diferenciar entre una enzima y otra en cuanto al porcentaje de jugo de zanahoria extraído comparado con el porcentaje de la pulpa de zanahoria no tratada con enzima, obteniendo el 59% de rendimiento con enzima ultrazym AFPL, mientras que con la enzima pectinex Ultra SP-L se obtuvo el 52%. A manera de referencia, el porcentaje de jugo de zanahoria extraído de la pulpa no tratada con la enzima fue de sólo 36,0, mediante el descenso de la absorbancia se pudo determinar que existe diferencia significativa en cuanto se refiere a las enzimas; la enzima ultrazym AFPL tiene un promedio igual al 0,30 UA y la enzima pectinex ultra SP-L con una media de 0,37 UA; en los tratamientos con enzima Ultrazym AFPL durante la fase de fermentación se notó la clarificación de mostos, mientras que con enzimas pectinex ultra SP-L la clarificación de mostos no era tan eficaz.

Mediante el análisis sensorial de aceptabilidad realizado a la bebida tipo vino para diferenciar entre los dos tratamientos a1b1 y a2b2; en la prueba de aceptabilidad se evaluaron atributos: color, olor, sabor, sabor extraño, aceptabilidad, utilizando la ficha de catación con una escala de 5 puntos. Realizando el análisis estadístico, mostro que la bebida tipo vino de zanahoria-naranja; con enzima Ultrazym AFPL y mezcla (50% zanahoria – 50% naranja) (a2b2), empleada en este estudio; fue de mayor agrado por parte de los catadores.

Se realizó el respectivo estudio económico a escala de laboratorio en el mejor tratamiento a2b2: enzima Ultrazym AFPL y mezcla de jugos (50% zanahoria – 50% naranja); con el fin de conocer el costo de producción de esta bebida, utilizando el balance de materiales se tiene que la botella de vino Santa Lucia de 750ml para la venta al público cuesta \$ 3,67. Según informaciones de mercado permiten manifestar que el precio de venta aproximado de un vino de manzana esta a \$ 5 en los supermercados. En consecuencia comparado con el precio de producción de esta bebida. Por consiguiente, se tendría una ganancia neta de \$ 1,33 por botella de 750ml. El mismo que reúne los estándares de calidad y alcanza una buena aceptabilidad por los catadores.

Recomendaciones

Para la extracción del jugo de zanahoria se recomienda utilizar la enzima Ultrazym AFPL a temperatura no menor de 35°C; la enzima da un mejor rendimiento y buenas características organolépticas.

Se recomienda usar metabisulfito de sodio a 150ppm en agua; para lavar recipientes de fermentación: mangueras, lienzo y pinzas.

Es necesario fermentar en un lugar oscuro y fresco, a temperatura ambiente; luego cubrir la tapa del fermentador con silicona, para evitar el ingreso de oxígeno, y evitar la presencia de microorganismos indeseados.

Referencias Bibliografía

- ABBOTT David. 1973. Introducción a la cromatografía. Tercera edición. Edt. Alhambra. Madrid – es. Pg. 11.
- ALULEMA Carlos.- SALINAS Camilo. 1993. Obtención de vino a partir de Miel de abeja. Tesis 146- FCIAL – UTA. Pg. 59-60.
- BRUCE W. zoecklein, KENNETHC. Fugelsang, y otros. 2001. "Análisis y producción de vino". Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España. Pág. 251-273.
- CABRERA, J. VELASCO, M; 1989, "Elaboración de vino a partir de manzana, pera, piña y mora a escala piloto". Tesis 102- FCIAL – UTA. Pg. 110- 114.
- DEL POZO Fredy- VALENCIA Alex (2004). Establecer una tecnología para la obtención de una bebida alcohólica a partir de Maíz (*Zea mays* variedad morochon). Tesis 321-FCIAL- UTA. Pg. 36-38.
- PROCEL, Luis Marcelo, 1985, "Elaboración de vino de pera "variedad piña" (*Piruscomunis*, variedad ANONNA MARICATUM)". Tesis 55.
- HERBERT G. (1986). Elaboración artesanal de licores. Edt. Acribia Zaragoza – ES. Pg. 210-214.
- J.M. Storch. 1975. Fundamentos de la cromatografía de gases. Edt. Alhambra, S.A.- Madrid. pg. 12-22.
- GAMBOA, Mónica, 2003, "Utilización de preparados Enzimáticos en la producción de vino de Mora (*RubisglaucusBenth*)" Tesis 307.
- AMERINE M. A- OUGH C.S. 1976. Análisis de vinos y mostos. Edt. Acribia. Zaragoza – ES. Pg. 37-40.
- REBÉREAW j. 1989. Tratado de Enología: Ciencias y Técnicas del vino ed. Hemisferio Sur. Primera Edición. Buenos Aires AR. Pg. 33-30.
- BODEGAS. J. 2005. Las soluciones de aumento de pH están en el viñedo y en la elaboración. II Encuentro de Enólogos, fundación para la cultura del vino Nº 11 de Abril. Pg. 12.
- SANNINO F. 1954. Fining Agents for Wine. Proc !4th Annu. NMconf.pg. 116-118.
- MEILGAARD, C, 1991. Sensory Evaluation Techniques, segundaedición.CRC Press LLc. Pg. 354 – 356.
- SANDRA GRABRIELA BARRAZUETA ROJAS Y LENIN ABELARDO GARCES ESPINOSA. Caracterización de la zanahoria amarilla (*Daucus carota*) pg. 1-8.

Determinación de parámetros físico-químicos de zanahoria amarilla (*Daucus carota*) como base para el establecimiento de la Norma de requisitos pg. 2-27. DANIELA CULQUI PESANTEZ; GLADYS NAVAS MIÑO. Estudio de una tecnología para la obtención de una bebida alcohólica a partir de oca (*Oxalis tuberosa*) tratada enzimáticamente con la inclusión de mandarina (*Citrus reticulata*) pg. 1-8.

ZÉÑANO, F. 19870. Como se cultivan las hortalizas de bulbo, raíz y tubérculos, Barcelona – España: Editorial de Vecchi pg. 77-91.

INEN (1978), Normas 340, 2014, 348:78.

YERAMIAN N., F. VARELA, F. CALDERÓN, B. COLOMO, A. MORATA, J.A. SÁREZ LEPE Y E.D. SANCHO. 2001. Acidificación del mosto por *Saccharomyces*. VI Jornadas Científicas 2001 Grupos de investigación Enológica. Pg. 56-82.

DAS K, Solehah A, Balaumani VT, Amiza MA (1994) Enzymes for improved extraction and stabilization of colour and flavour of orange juice. *Journal of Food Science and Technology*. 31: 508-510.

DINNELLA C, LANZARINI G, MONTELEONE (1998) Enzymatic carrot tissue maceration: optimization by response surface analysis. *Sciences Des Aliments*. 18: 497-505.

HOURS, R; M. FERREYRA. Caracterización física química y microbiológica jugos de naranja destinados a vinificación, ciencia, docencia y tecnología (2005). XVI, numero 031. Universidad Nacional de Entre Ríos. Argentina pg. 219-239.

Revista Novo Nordisk, 1995.

AZTI-DIFUSION TECNOLÓGICA. 2001. Real Decreto 2001/1995, de 7 de diciembre, del ministerio de sanidad y consumo. Aditivos autorizados en vinos y diversas bebidas alcohólicas a base de vinos. Elaborado por Servicio de información Alimentaria Aditivos Alimentarios.

BELDMAN G, VORAGEN AGJ, ROMBOUST FM, PILNIK W (1988) Synergism in cellulose hydrolysis by endoglucanases and exoglucanases purified from *Trichoderma viride*. *Biotechnology and Bioengineering*. 31: 173-178.

EDUARDO JAVIER; CELICILIA CARPIO. Uso de la zanahoria amarilla (*Daucus carota*) para elaborar una bebida fermentada; Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos). Pg. 1-3.

AGUSTIN Pittaluga Y MARCOS Tiscornia (2010) 2º BQI. Determinación de la acidez del jugo natural del limón expresado en ácido cítrico. Pg. 1-9.

MORIN, Charles. Cultivo de Cítricos. Lima: 1967. P. 82.

DESARROLLO DE UNA TECNOLOGÍA ADECUADA, RESPETUOSA CON LA CULTURA ANCESTRAL AMAZÓNICA PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA REFRESCANTE DE GUAYUSA (*Ilex guayusa* Loes) DE FÁCIL ACEPTACIÓN POR EL CONSUMIDOR DEL CANTÓN MACAS, PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO

Pazmiño, Maricela y Garcés, Lenín.
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
Av. Los Chasquis y Río Payamino. E-mail: maferna5@yahoo.com
Ambato – Ecuador

Palabras claves: Guayusa, infusión, bebida refrescante, aceptabilidad, Amazonía.

RESUMEN

Se elaboró una bebida refrescante empleando las hojas de un árbol nativo de la región Amazónica que es la guayusa y como endulzante la panela. Se aplicó un modelo AxBxC con 18 tratamientos que permitió realizar las determinaciones fisicoquímicas siguientes: pH, acidez y °Brix; y un modelo de bloques incompletos equilibrados (DBIE) para la evaluación sensorial, con el fin de encontrar el mejor tratamiento para obtener una bebida refrescante de guayusa de fácil aceptación.

Se presentan los datos de los análisis fisicoquímicos con su respectiva replica y el análisis de varianza de cada determinación en donde no se detectaron diferencias significativas en cuanto a pH, acidez y °Brix, a diferencia del color, olor, sabor y aceptabilidad en donde si existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Estableciéndose como mejor tratamiento el T9, que corresponde: a1b1c1 (20 gr de guayusa, 5 minutos de infusión y la mezcla de la panela antes de la infusión. Los parámetros microbiológicos se encontraron por debajo de los límites establecidos en las normas; el tiempo de vida útil de la bebida es de 3 meses y el precio de venta al público de una botella de 500cc es de \$0,48.

INTRODUCCIÓN

Ilex guayusa Loes es reconocida con el nombre de guayusa en la mayoría de localidades de Ecuador. La guayusa es un árbol perenne nativo de la región amazónica, donde es silvestre, pero también está presente en ciertos lugares subtropicales de la región andina en estado cultivado (Jorgensen Y Colab. 1999).

La guayusa es una planta que encierra tradiciones y mitos en la Amazonia. Las familias Shuar toman una infusión de guayusa por las madrugadas. Al uso médico se suma otro muy generalizado: esta planta, preparada como té, es muy energizante. En Morona Santiago, los colonos fueron los más influenciados por la cultura Shuar en el consumo del "agua de guayusa". Además, los Macabeos (colonos de Macas) utilizan la guayusa como medicina, refresco o en cocteles. Entre los quechua de la Amazonia, el "agua de guayusa" sirve para dar la bienvenida a una visita o en las festividades. Existe la creencia de que las personas que están de paso en la zona y beben el agua de esta planta se quedarán eternamente por estas tierras amazónicas. (Redacción El Comercio, 2006).

Nacionalidad Shuar

Idioma: shuar chichám.

Se denominan a sí mismos Untsurí Shuar (gente de la montaña). Viven a orillas de los ríos Santiago, Morona y Pastaza, ocupan la parte sur de la provincia de Pastaza, el este de Morona Santiago y Zamora Chinchipe. Son alrededor de 40.000. La población mayor se asienta en la provincia de Morona Santiago (Benitez, 1998).

Nacionalidad Achuar

Idioma: Achuar.

Familia lingüística: Jibaroana.

Afinidad con otras etnias: Shiwiar y Shuar.

Auto denominación: Achu-Shuar, Achuar ("gente")

Población: Unas 3.000 personas en Ecuador y unas 2.000 en Perú.

Ubicados al margen izquierdo del río Pastaza, cerca de la frontera con Perú, se encuentran asentados a orillas del río Bobonaza, en las cabeceras del río Tigre y Corrientes (Benitez, 1998).



Los pueblos Shuar y Achuar se hallan étnicamente emparentados y conviven en territorios de Ecuador y Perú junto a otras etnias como la de los Aguaruna y los Huambisa del Perú (Fundación Etnológica Tsantsa).

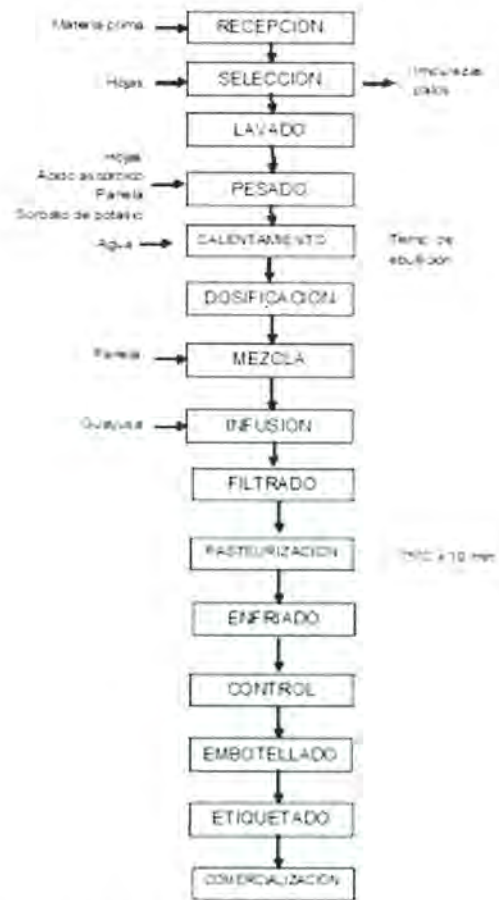
La investigación se realizó con el fin de desarrollar una tecnología adecuada para la elaboración de una bebida refrescante de guayusa, en la que se determinó las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales, tiempo de vida útil y costo del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la determinación de las propiedades fisicoquímicas de la bebida se elaboraron 18 tratamientos basados en un modelo AxBxC (A: cantidad de guayusa, B: tiempo de infusión de la guayusa y C: mezcla de la panela); el pH se determinó con la ayuda de un pH-metro, marca Multiparameter analyser Consort C562, con escala de pH 1.0 - 15.0, previamente calibrado con soluciones buffer de 4.0 y 7.0. Para la acidez se tomó en cuenta la cantidad de ml gastados de NaOH (0,1N) y para los °Brix se trabajó con Brixómetro. El análisis microbiológico fue realizado en placas petrifilm con un conteo manual; y para la evaluación sensorial se aplicó el DBIE a 57 catadores no entrenados utilizando una escala estructurada con valores del 1 al 5.

Se determinó el mejor tratamiento teniendo en cuenta las características sensoriales y de estabilidad de la bebida, la misma que fue sometida a condiciones aceleradas de almacenamiento para la determinación de la vida útil y mediante un análisis de costos se pudo establecer su precio de venta al público.

Gráfico 1. Diagrama de flujo para la elaboración de una bebida refrescante de guayusa



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

pH

Los valores de pH para los 18 tratamientos son muy similares y se encuentran en un rango de 4,3 a 4,8. El análisis de varianza muestra que no existe diferencia significativa en los factores de estudio y en ninguna de las interacciones de los factores,

Acidez

Los datos obtenidos de los 18 tratamientos están en un rango de 0,028 a 0,0498. En el análisis de varianza ANOVA existe diferencia significativa entre las interacciones de los factores AB y BC, por lo tanto la acidez de la bebida si depende de cada factor en estudio.

°Brix

Los °Brix de cada tratamiento van desde 6,5 °Brix a 7,25°Brix. El análisis de varianza expresa que no existe diferencia significativa entre los tratamientos y las interacciones por lo que lo °Brix no varían con relación a los factores de estudio.

Tabla1. Propiedades fisicoquímicas de la bebida refrescante de guayusa

| Tratamientos | pH | Acidez | °Brix |
|--|------|--------|-------|
| a ₀ b ₀ c ₁ | 4,46 | 0,0445 | 7,00 |
| a ₀ b ₀ c ₂ | 4,60 | 0,0480 | 6,75 |
| a ₀ b ₁ c ₁ | 4,55 | 0,0320 | 7,25 |
| a ₀ b ₁ c ₂ | 4,47 | 0,0445 | 6,50 |
| a ₀ b ₂ c ₁ | 4,69 | 0,0498 | 6,75 |
| a ₀ b ₂ c ₂ | 4,57 | 0,0392 | 7,00 |
| a ₁ b ₀ c ₁ | 4,57 | 0,0374 | 7,25 |
| a ₁ b ₀ c ₂ | 4,59 | 0,0434 | 6,75 |
| a ₁ b ₁ c ₁ | 4,70 | 0,0469 | 6,75 |
| a ₁ b ₁ c ₂ | 4,46 | 0,0441 | 6,75 |
| a ₁ b ₂ c ₁ | 4,71 | 0,0473 | 7,10 |
| a ₁ b ₂ c ₂ | 4,57 | 0,0480 | 7,25 |
| a ₂ b ₀ c ₁ | 4,58 | 0,0480 | 6,75 |
| a ₂ b ₀ c ₂ | 4,55 | 0,0437 | 7,00 |
| a ₂ b ₁ c ₁ | 4,71 | 0,0416 | 6,25 |
| a ₂ b ₁ c ₂ | 4,61 | 0,0445 | 6,50 |
| a ₂ b ₂ c ₁ | 4,52 | 0,0477 | 6,75 |
| a ₂ b ₂ c ₂ | 4,54 | 0,0452 | 7,00 |

Análisis sensorial

Se trabajó con 18 tratamientos y un patrón para llevar a cabo las cataciones aplicadas a 57 personas no entrenadas de la ciudad de Macas, provincia de Morona Santiago, cada catador recibió 3 muestras y mediante una escala estructurada para color, olor, sabor y aceptabilidad del 1 al 5 procedieron a calificar las bebidas obteniendo como resultado que los factores de estudio influyen sobre la bebida refrescante, por lo tanto afectan a la calidad sensorial del producto y los catadores si distinguen diferencias entre los tratamientos lo cual se evidencia mediante el análisis estadístico realizado.

Tabla2. Promedios de la evaluación sensorial de la bebida refrescante de guayusa

| TRATAMIENTOS | Promedios de los atributos | | | |
|--------------|----------------------------|------|-------|---------------|
| | COLOR | OLOR | SABOR | ACEPTABILIDAD |
| T1 | 3,67 | 1,89 | 3,56 | 3,78 |
| T2 | 3,22 | 2,22 | 3,44 | 3,22 |
| T3 | 2,89 | 2,67 | 4,33 | 4,22 |
| T4 | 3,44 | 2,33 | 3,22 | 3,11 |
| T5 | 3,22 | 2,89 | 4,33 | 4,33 |
| T6 | 3,00 | 3,00 | 3,33 | 3,44 |
| T7 | 3,22 | 2,78 | 4,44 | 4,33 |
| T8 | 2,78 | 2,89 | 3,33 | 3,44 |
| T9 | 3,00 | 3,22 | 4,78 | 4,78 |
| T10 | 2,78 | 3,11 | 3,44 | 3,44 |
| T11 | 2,78 | 3,33 | 4,89 | 4,78 |
| T12 | 2,11 | 3,56 | 3,67 | 3,22 |
| T13 | 2,78 | 3,22 | 4,33 | 4,56 |
| T14 | 1,89 | 3,67 | 3,22 | 3,11 |
| T15 | 2,33 | 3,56 | 4,67 | 4,33 |
| T16 | 1,89 | 4,00 | 3,44 | 3,22 |
| T17 | 1,56 | 4,33 | 3,67 | 3,56 |
| T18 | 1,56 | 4,78 | 3,11 | 2,89 |
| T19 | 4,11 | 2,22 | 4,22 | 4,00 |

Mejor tratamiento

El mejor tratamiento es el T9 a1b1c1 (20 gramos de guayusa, por un tiempo de infusión de 5 minutos y la panela es colocada antes de la infusión de la guayusa), debido a que los valores de pH, acidez y °Brix se mantienen estables en el tiempo y fue el tratamiento que recibió la mejor calificación en la evaluación sensorial.

Estudio del tiempo de vida útil del producto

Se realizó en las siguientes condiciones: se colocaron muestras del mejor tratamiento en una incubadora a 40°C y se realizó el control de pH, °Brix, acidez y análisis microbiológico cada 7 días durante 30 días que se muestran en la tabla 3.

La bebida presenta cambios leves y se hacen más evidentes a partir de los 22 días, lo que permite comprobar que la bebida es estable en condiciones aceleradas durante 22 días sin observar ningún cambio. De acuerdo con los análisis microbiológicos obtenidos se comprueba que el producto es inocuo ya que la presencia de carga microbiológica de la bebida refrescante de guayusa esta dentro de la norma INEN. Se puede concluir que la bebida es estable aproximadamente durante 3 meses.

Tabla 3. Estudio de vida útil del mejor tratamiento

| Días | pH | Acidez | °Brix | Aerobios | Mohos y Levaduras | Coliformes Totales |
|------|------|--------|-------|----------|-------------------|--------------------|
| 0 | 4,86 | 0,049 | 7 | 13 | 4 | Negativo |
| 7 | 4,79 | 0,058 | 7 | 16 | 6 | Negativo |
| 15 | 4,73 | 0,064 | 7 | 21 | 7 | Negativo |
| 22 | 4,67 | 0,078 | 6,75 | 32 | 10 | Negativo |
| 30 | 4,56 | 0,094 | 6,25 | 48 | 15 | Negativo |

Análisis económico

La bebida refrescante de guayusa embotellada en presentaciones de 500cc tiene un costo de \$0,39 y adicionando la utilidad de la empresa (0,09 ctvs.) alcanza un valor de \$0,48, valor que es menor a las demás bebidas refrescantes que se encuentran actualmente en el mercado. La incidencia más significativa en los costos de fabricación son los materiales directos e indirectos que representa el 63% y el personal el 30%.

CONCLUSIONES

La investigación ha permitido desarrollar una tecnología adecuada para la elaboración de una bebida refrescante de guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y se basa en la consideración de tres factores de estudio: el porcentaje de hojas guayusa, el tiempo de infusión de la guayusa y la mezcla de la panela en la bebida refrescante. Para la elaboración de la bebida se aplicó la formulación adecuada utilizando cada uno de los ingredientes en las cantidades exactas con el fin de lograr un producto final de calidad y con características organolépticas agradables para el consumidor.

La bebida debe ser sometida a un tratamiento de pasteurización a 75°C durante 10 min lo cual garantiza un adecuado proceso que junto a un correcto embotellado dan como resultado una bebida refrescante natural apta para el consumo del país.

El mejor tratamiento para la elaboración de una bebida refrescante de guayusa es el tratamiento 9 que corresponde a 20 gramos de hojas de guayusa, sometidas a 5 minutos de infusión en donde se añade la panela antes de la infusión de la guayusa. Presenta un pH de 4,84, una acidez de 0,048 y 7°Brix.

Las pruebas microbiológicas fueron recuento total de mesófilos aerobios, mohos y levaduras donde las unidades formadoras de colonias se encuentran dentro de las normas establecidas y el recuento de Coliformes totales fue negativo, lo que indica que se trata de un alimento inocuo.

Se estableció la vida útil de la bebida que corresponde a 3 meses y con un precio de venta al público de \$0,48. El grado de aceptabilidad del producto final es de 8,7 sobre 10 por lo que concluimos que la aceptabilidad de la bebida refrescante de guayusa es muy buena en la población del cantón Macas, provincia de Morona Santiago.

BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA, M. (1972). Guayusa, planta medicinal del Oriente ecuatoriano. Publicación Miscelánea (Quito) 302: 1-8.
- ACOSTA, M. (1993). Plantas medicinales del folclor Ecuatoriano. Editorial CCE:NT. Ecuador. 163pp.
- ALVARADO, Juan. (1996). Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos. Editorial Radiocomunicaciones; Quito - Ecuador. 372 - 398pp.
- BENITEZ, L- GARCES, A. (1998). Culturas ecuatorianas ayer y hoy. Ediciones ABYA-YALA. Cayambe-Ecuador
- ESTRELLA, E. (1988). José Mejía Primer Botánico Ecuatoriano. Abya - Yala. Quito - Ecuador.
- ESTRELLA, J. - MANOSALVAS, R. (2005). Biodiversidad y recursos genéticos: una guía para su uso y acceso en el Ecuador. Fundación Ecuatoriana de Estudios Ecológicos (EcoCiencia), INIAP, MAE y Ediciones Abya-Yala. Quito, Ecuador. 116 pp.
- FUNDACIÓN CHANKUAP. (2006). Plan de manejo de *Ilex guayusa* Loes. Fundación Chankuap. Macas, Ecuador.
- Fundación Etnoecologica Cultural Tsantsa. (2003). Aja Shuar Sabiduría Amazonica. Segunda edición. Macas-Ecuador pp 9-29

JORGENSEN, P.M. y LEÓN-YÁNEZ S. (1999). Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Monographs in Systematic Botany from The Missouri Botanical Garden 75.

Normas INEN (1983). Bebidas gaseosas.

RADICE, M y VIDARI, G. Caracterización fitoquímica de la especie *Ilex guayusa* Loes. y elaboración de un prototipo de fitofármaco de interés comercial. Università degli Studi di Pavia. Italia

Redacción diario El Comercio Puyo – Ecuador. 2 de diciembre del 2006

SALTOS Aníbal (2010) “Sensometría en Alimentos”, Edición única, Ambato – Ecuador.

SALAS, Valerio, (2007). Vida en anaquel de alimentos. Lima - Perú

VARNAN, A- SUTHERLAND, J. (1994). Bebidas. Tecnología, Química y Microbiología. Editorial Acribia. Zaragoza-España.

“OBTENCIÓN DE ENZIMAS CELULASAS A PARTIR DE HONGOS (*pleurotus ostreatus*, *pleurotus pulmonarius* y *lentinula edodes*) UTILIZANDO COMO SUSTRATOS LOS RESIDUOS DEL CULTIVO DEL BANANO (*musa cavendish*)”

Daysi Paredes Medina¹, Gladys Navas Miño², Mario Álvarez Núñez³

1, 2 y 3 Universidad Técnica de Ambato, Ingeniería en Alimentos, Unidad Operativa de Investigación de Tecnología de Alimentos (UOITA), Campus Académico Huachi-Av, Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador

daysi_pame@hotmail.com, glacenam@hotmail.com, marioferalv@hotmail.com

Palabras claves: Guayusa, infusión, bebida refrescante, aceptabilidad, Amazonía.

RESUMEN

En Ecuador se genera gran cantidad de residuos lignocelulósicos como resultado del cultivo de banano (ricos en celulosa, hemicelulosa y lignina), los cuales pueden ser empleados en fermentación sólida de hongos productores de enzimas celulasas y como materia prima para producir bioalcohol. En el presente trabajo se analizó la actividad de enzimas celulasas (UI/g de residuo seco) obtenidas de la fermentación sólida sobre los residuos de banano pseudotallo, hojas y raquis con los hongos *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* y *Lentinula edodes* en 24 días de incubación. La máxima actividad enzimática de celulasas fue producida por *Lentinula edodes* en pseudotallo con valores de 8,14 UI/g de residuo seco. Para la aplicación de las enzimas celulasas en la obtención de bioalcohol, primeramente se modificó la estructura química de la lignina de los residuos de banano, mediante un pretratamiento a cada uno, con 0,74 g de hidróxido de calcio/g de residuo, para la posterior hidrólisis de la celulosa a azúcares con 12 UI de extracto enzimático/g de residuo seco pretratado. Los líquidos conteniendo los azúcares solubles fueron separados y concentrados a 6°Brix, para su posterior fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* durante 9 días. El mayor rendimiento de etanol fue 24,66 ml por 100 g de residuo seco cuando se utilizó raquis pretratado. Se cree que existe prometedoras posibilidades para utilizar los residuos de cultivo de banano como sustratos para producción de enzimas celulasas y como fuente de biomasa lignocelulósica para etanol.

Palabras Claves: residuos lignocelulósicos de banano, fermentación sólida, celulasas, actividad enzimática, pretratamiento, celulosa, hidrólisis, etanol.

1. Introducción

A lo largo de la historia se han venido empleando enzimas para usos industriales como las celulasas, que se obtienen con diferentes microorganismos que han sido estudiados en diferentes sustratos. La optimización de la producción de enzimas a partir de microorganismos depende de una serie de factores interrelacionados, lo que significa que una enzima solo puede sintetizarse durante parte de su ciclo de crecimiento [1].

Las celulasas y xilanasas son enzimas hidrolíticas que participan en el rompimiento de los enlaces glicosídicos β -1,4 presentes en los polisacáridos de la celulosa y hemicelulosa, respectivamente. El interés por las celulasas empezó alrededor de los años 50 debido a su enorme potencial para convertir la lignocelulosa en glucosa y azúcares solubles. Cabe señalar que la lignocelulosa es la fuente de energía renovable más abundante de la tierra. Está formada por tres componentes principales que son: celulosa, hemicelulosa y lignina, y su contenido es bajo en cenizas, proteínas, grasas y ceras [2].

Bacterias y hongos pueden producir enzimas celulasas para la hidrólisis de material lignocelulósico. Estos microorganismos pueden ser aeróbicos o anaeróbicos, mesófilos o termófilos. [3]. Géneros y especies de hongos tales como *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Neurospora crassa*, incluyendo además hongos comestibles como: *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea*, *Pleurotus* sp., producen celulasas [4].

La celulosa es el principal componente de la membrana celular de la mayor parte de las plantas, está constituida por moles de D-glucosa unidas por los enlaces β -1-4 glucosídicos y es el más abundante en la biosfera, generalmente resistente a la fermentación, no significa que no se pueda hidrolizar, pues existen microorganismos celulíticos que poseen enzimas como: las celobiohidrolasas y las endoglucanasas que se encargan de su degradación [5].

Los residuos agrícolas son ricos en celulosa, hemicelulosa y lignina; teniendo en cuenta su estructura, pueden usarse como sustratos para el cultivo de hongos filamentosos capaces de producir enzimas extracelulares con actividades celulasas, con importantes aplicaciones industriales, como la hidrólisis de biomasa lignocelulósica para la producción de etanol [6].

Una planta de banano al momento de su cosecha debe tener un peso promedio de 100 Kg los cuales están repartidos en 15 Kg de hojas; 50 Kg de pseudotallo; 33 Kg de banano y 2 Kg de raquis. Esto lógicamente indica que el 67% del volumen total de producción lo constituyen los desechos que no provecha el hombre sistemáticamente, sino más bien es un foco de contaminación [7].

El bioalcohol es un combustible de origen vegetal que tiene las características parecidas a los de los combustibles fósiles, lo que permite su utilización en motores apenas modificados. Además, los biocombustibles no contienen azufre, uno de los causantes de la lluvia ácida. El bioetanol puede fabricarse a partir de cualquier materia prima orgánica que contenga cantidades significativas de azúcares o compuestos que puedan transformarse en azúcares como almidón o celulosa [8].

La utilización de la tecnología del bioalcohol en el sector agrícola, particularmente en países no industrializados, como el Ecuador, puede permitir a los pequeños, medianos y grandes productores disponer de una alternativa para su producción, pudiendo utilizar parte de la misma para autoabastecerse de biocombustible, total o parcialmente, en función de los precios de las materias primas a utilizarse.

Considerando estos antecedentes en el presente estudio se plantearon los siguientes objetivos:

a) Producir enzimas celulasas a partir de residuos agrícolas que se desechan del cultivo de banano como las hojas, raquis y pseudotallo por fermentación sólida con los hongos *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* y *Lentinula edodes*; b) Determinar la actividad de las enzimas celulasas a diferentes tiempos y pH de reacción. c) Aplicar las enzimas celulasas en la hidrólisis de la celulosa residuos de banano, previo un pretratamiento para la obtención de etanol.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales

Los residuos del cultivo de banano: hojas, pseudotallo y raquis perteneciente a la familia Musaceae y de género *Musa* empleados en el presente estudio provinieron de la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas. Así también se utilizó granos de trigo para la propagación de cepas, que sirvieron de semilla para fermentar los residuos de banano.

Para la obtención de extractos enzimáticos se utilizaron tres cepas de hongos: *Pleurotus ostreatus* var. florida registrada como CP-184, cedida por la colección del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (Universidad de Oriente, Cuba); *Pleurotus pulmonarius* N. 20 Pamela Fungi propiedad de la UOITA; y la cepa *Lentinula edodes* provenientes del laboratorio Wb-Laboratory-Canadá.

2.2. Métodos

La investigación se ejecutó en la Unidad de Investigación en Tecnología de Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

2.2.1. Acondicionamiento de la materia prima. Los residuos del cultivo de banano como: hojas, pseudotallo y raquis fueron trasladados a la Unidad Operativa de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato para la aplicación de los distintos tratamientos. Se seleccionaron los residuos de apariencia firme, color y olor característico, luego fueron lavados, deshidratados en un secador a 60°C y por último cortados para su posterior análisis.

2.2.2. Análisis químico de los residuos lignocelulósicos del banano

Análisis proximal de los residuos de banano: se utilizaron los métodos AOAC Official Method, 2002 para la determinación de proteína, grasa, fibra y cenizas [9].

Extracción de los solubles en alcohol-benceno: Previamente a la determinación de lignina y celulosa, las muestras fueron sometidas a extracción de los materiales solubles en dos partes de benceno y una parte de etanol. Con los solventes se extraen todas las sustancias de baja polaridad como resinas, ácidos grasos, hidrocarburos, parte de los taninos. Se realizó en extractor tipo Soxhlet por un tiempo de cuatro horas [10].

Eliminación de los compuestos solubles en agua caliente: Al material extraído en alcohol-benceno se lo trató con agua a baño termostático por tres horas. El agua caliente disuelve todos los extractivos que no fueron solubles en la etapa anterior. Incluye el resto de los taninos, azúcares, aminoácidos, alcoholes [10].

Determinación del contenido de lignina insoluble en ácido: El contenido de lignina insoluble en ácido se realizó en las muestras libres de sustancias extraíbles. Las muestras se mezclaron con 15 ml de H₂SO₄ al 72%, se agitaron con frecuencia a 15°C durante dos horas. Las mezclas se diluyeron con agua destilada, se colocaron a reflujo durante cuatro horas, se filtraron, y los residuos se secaron hasta masa constante, según el método de Klason descrita por Núñez C. (2008) [10].

Determinación del contenido de celulosa: El contenido porcentual de celulosa se determinó mediante el método de Kûrshner-Höffer, los materiales libres de sustancias extraíbles se le añadieron 25 ml de mezcla reactiva de HNO₃-etanol (1:4); se colocaron a reflujo en baño de agua durante una hora, se decantaron y se añadieron una nueva cantidad de mezcla reactiva, repitiendo esta operación tres veces. Posteriormente se añadieron 25 ml de KOH al 1% durante 30 minutos, se filtró y los sólidos se secaron [11].

Estimación del contenido de hemicelulosa total: Las hemicelulosas totales se estimaron por diferencia entre 100% y la suma del porcentaje de celulosa y lignina

2.2.3. Obtención de enzimas celulasas por fermentación sólida

Preparación de la semilla de las diferentes cepas de hongos: Para preparar la semilla se utilizó granos de trigo, se seleccionaron los granos para eliminar partículas ajenas, y se lavaron mediante enjuagues continuos con abundante agua. Se sumergieron los granos en agua fría durante 24 horas y se escurrió el exceso de agua. Seguidamente se colocaron aproximadamente 400g de trigo hidratado en frascos de boca ancha y de capacidad de medio litro. Se esterilizaron en autoclave a 121 °C por 20 minutos. Se enfriaron los frascos y se los agitaron con la finalidad de separar los granos y favorecer una aireación e hidratación homogénea. Con la ayuda de un bisturí estéril se partió en porciones iguales el micelio de los tres tipos de hongos crecidos en PDA en cajas Petri. Estas porciones se depositaron en los frascos que contenían los granos de trigo con un asa estéril. Se incubaron los frascos por 2 semanas a una temperatura de 22-24°C y una humedad relativa de 60-70%.

Obtención de enzimas celulasas por fermentación sólida: Se colocaron 12 g de residuos de banano en matraces de 500 ml, el tamaño de partícula de los residuos fue de 0,5 y 1 cm aproximadamente y se ajustaron la humedad al 80%. Posteriormente, los matraces con los residuos se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 30 minutos, se dejaron enfriar hasta 22°C. En forma aséptica se mezcló homogéneamente con la semilla en una proporción del 2% del peso húmedo del sustrato. Se incubaron los matraces por 24 días a una temperatura de 22-24°C y una humedad relativa de 60-70%.

Extracción de enzimas: Al tiempo definido de fermentación (24 días) se adicionaron a cada matraz 30ml de solución amortiguadora de citrato 50mM, pH 5,3 y se agitaron durante 15 minutos, para seguidamente prensarle. El volumen obtenido se distribuyó en tubos para centrifugarlos por 30 minutos a 6000 rpm y se separaron el sobrenadante al cual le llamaremos extracto enzimático.

Determinación de la actividad enzimática de las enzimas celulasas: La actividad de enzimas celulasas se midió aplicando el procedimiento de Loera y Córdova y la concentración de azúcares reductores por el método de Lane y Eynon citado en Márquez A., et al., 2007.

Como sustrato para la actividad de celulasas se utilizó carboximetil celulosa (CMC) sal de sodio al 0,5%, que fue disuelto a razón de 2,5g en 500ml de solución amortiguadora de citrato (50mM; pH 5,3). La mezcla de reacción se hizo con 45ml de sustrato y 5 ml de extracto enzimático en matraces de 50ml. Los matraces fueron colocados en un baño termostático con agitación (80 rpm) a 50°C por el lapso de 1 hora. Luego la mezcla fue hervida por 1 minuto para inactivar la enzima y se determinaron el contenido de azúcares reductores formados en la mezcla de reacción. Para el cálculo de la actividad enzimática se relacionó con el volumen de extracto enzimático extraído de cada matraz de fermentación. La actividad enzimática de celulasas se reportaron en Unidades Internacionales (UI), definiendo la UI como la cantidad de enzima que libera 1µmol de azúcares reductores (glucosa) por minuto en las condiciones de la reacción. Para cada fermentación sólida, la actividad enzimática se expresó en UI por gramos de residuo seco [12].

2.2.4. Obtención de bioalcohol. Los residuos hojas, raquis y pseudotallo de banano deshidratados y cortados se sometieron a un proceso de molienda en un molino de piedras. Las harinas de los residuos fueron tamizados en un tamiz de malla de 40 mesh (Serie Standard Sieve, U. S. A, con un tamaño de poro de 42,5 µm).

Pretratamiento de los residuos de banano: Se tomaron 100g de cada residuo molido y por separado se les agregó 0,74 g de hidróxido de calcio/g de residuo seco y fueron llevados a un volumen 720 ml con agua destilada. Los residuos fueron colocados en vaso de precipitación de 1000 ml, tapados con papel aluminio y colocados en una estufa a la temperatura de 90°C por 90 horas. Una vez enfriado, se lavo por sucesivas ocasiones con agua destilada hasta obtener agua clara en el filtrado. Los residuos lavados fueron colocados en vasos de precipitación y neutralizado con ácido cítrico al 20%, para nuevamente lavarlos con agua destilada con el fin de eliminar los excedentes de hidróxido de calcio y acondicionar los residuos a un pH óptimo (5,3) para su posterior hidrólisis.

Figura 1. Diagrama de flujo para la obtención de enzimas celulasas por fermentación sólida de hongos (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* y *Lentinula edodes*), utilizando como sustratos los residuos del cultivo del banano (*Musa cavendish*)



Hidrólisis enzimática: Cada uno de los residuos tratados fueron puestos en una suspensión del 5% en agua destilada y ajustados a pH 5,3 con ácido cítrico al 10%. A la suspensión de los residuos pre-tratados se les adicionó el extracto enzimático en una proporción de 12 UI/ g de residuo seco y se incubaron a 50°C por 48 horas. Al final de este tiempo se filtro y se obtuvo un líquido conteniendo el azúcar fermentable.

Fermentación alcohólica: El líquido filtrado fue concentrado hasta 6°Brix, posteriormente se le adicionó los siguientes componentes: levadura *Sacharomyces cerevisiae* de fabricación nacional (3g/l) y nutrientes (urea 0,48g/l; fosfato ácido de potasio 0,24g/l extracto de levadura 0,5%) como menciona Cardona et al, 2004 [13]. El proceso de fermentación alcohólica se realizó en biorreactores adaptados a escala de laboratorio a una temperatura de 30°C durante 9 días. Al final de la fermentación se procedió a destilar y medir del grado alcohólico, según Métodos Oficiales de Análisis del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Tomo II, Madrid,

Figura 2. Diagrama de la obtención de etanol a partir de residuos del cultivo de banano pretratados e hidrolizados con enzimas celulasas



1986 [14] En la Figura 1, se describe el proceso de producción de etanol celulósico a partir de los residuos de banano.

2.2.5. Diseño experimental y análisis estadístico. Para la obtención de enzimas celulasas se utilizó un diseño factorial A*B con tres replicas por tratamiento. Los factores fueron tres tipos de hongos (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* y *Lentinula edodes*) y tres sustratos (hojas, pseudotallo y raquis). Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico *STATGRAPHICS* (2004). Los promedios se compararon mediante la prueba de Tukey (Multiple Range Tests) y la interacción de los dos factores mediante el paquete estadístico *EMSTAC*.

3. Resultados y Discusión

3.1. Análisis químico de los residuos

En la Tabla 1 se indica el análisis proximal de los residuos de la planta de banano: hojas, pseudotallo y raquis, en la que se visualiza su composición y su viable utilización en el presente estudio. Así se tiene que, el raquis es el residuo de banano que mayor cantidad de fibra en base seca posee, con un valor de 53,90%, seguido del pseudotallo con 35,30%, dato que es corroborado por Viswnathan et al, (1989) [15], que reporta un valor de 31,5% cercano al determinado en el presente estudio, mientras que el porcentaje de fibra en hojas fue de 34,20%.

Tabla 1. Análisis proximal de los residuos de banano en base seca (g/100g)

| Análisis | Hojas (%) | Pseudotallo (%) | Raquis (%) |
|-----------------|-----------|-----------------|------------|
| Cenizas | 16,10 | 28,30 | 23,10 |
| Extracto Etéreo | 2,30 | 9,60 | 1,50 |
| Proteína cruda | 12,30 | 5,30 | 3,30 |
| Fibra cruda | 34,20 | 35,30 | 53,90 |

Considerando que el 67% del volumen total de producción lo constituyen los desechos [7], bien se podrían posesionar como una innovadora alternativa de recurso para la generación de enzimas, aportando al aprovechamiento de residuos agrícolas que conforman del 30 al 42% de celulosa de la biomasa existente en la biosfera [3].

Tabla 2. Contenido de lignina, celulosa y hemicelulosa de los residuos lignocelulósicos del cultivo de banano, en base seca

| Residuo de banano | Lignina (%) | Celulosa (%) | Hemi-celulosa (%) |
|-------------------|-------------|--------------|-------------------|
| Hojas | 8,5 | 36,6 | 27,39 |
| Pseudotallo | 5,2 | 35,3 | 24,9 |
| Raquis | 9,85 | 30,6 | 15,7 |

En la Tabla 2 se indica el contenido de lignina, celulosa y hemicelulosa de los residuos lignocelulósicos del cultivo de banano en base seca. Así se tiene que las hojas contienen 36,6% de celulosa, seguida por el pseudotallo con 35,3% y por último el raquis con 30,6%. Por su predominancia con respecto al resto de componentes la celulosa es la opción más viable para utilizarse como fuente de producción de glucosa y así llegar al siguiente paso que es la fermentación alcohólica.

En las hojas, la hemicelulosa posee un valor de 27,39%, seguido de pseudotallo con 24,9% y de raquis con 15,7%. Como la hemicelulosa puede desdoblarse en otra forma de azúcar, esta se perfila como una segunda fuente para producir bioalcohol. El contenido de lignina en hojas presenta un valor de 8,5%, en pseudotallo 5,2%, y en raquis 9,85%, porcentajes no muy altos, pero que al ser la lignina la que restringe el acceso de las enzimas celulasas a la celulosa, por lo que esta debe ser hidrolizada o modificada previamente.

3.2. Actividad de enzimas celulasas

La determinación de actividad enzimática es una forma de medir la cantidad de enzima que se forma durante la fermentación sólida en un sustrato determinado, por lo que en primera instancia establecimos la mejor interacción cepa-sustrato, de la cual se pueda obtener un extracto enzimático con una máxima actividad.

Tabla 3. Actividades de las enzimas celulasas (UI/g de residuo seco) obtenidas de la fermentación sólida en los diferentes tratamientos

Figura 1. Diagrama de flujo para la obtención de enzimas celulasas por fermentación sólida de hongos (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* y *Lentinula edodes*), utilizando como sustratos los residuos del cultivo del banano (*Musa cavendish*)

| Tratamientos (Sustrato-Cepa) | | R 1 | R 2 | R 3 | Promedio |
|------------------------------|---|------|------|------|-------------------|
| T1 | Hojas- <i>P. ostreatus</i> | 1,27 | 2,15 | 2,47 | 1,96 ^c |
| T2 | Hojas- <i>P. pulmonarius</i> | 2,62 | 1,59 | 1,12 | 1,78 ^c |
| T3 | Hojas- <i>Lentinula edodes</i> | 0 | 0 | 0 | 0 ^d |
| T4 | Pseudotallo- <i>P. ostreatus</i> | 6,48 | 6,19 | 6,18 | 6,28 ^b |
| T5 | Pseudotallo- <i>P. pulmonarius</i> | 6,72 | 6,22 | 6,47 | 6,47 ^b |
| T6 | Pseudotallo- <i>Lentinula edodes</i> | 7,45 | 8,9 | 8,06 | 8,14 ^a |
| T7 | Raquis- <i>P. ostreatus</i> | 0 | 0 | 0 | 0 ^d |
| T8 | Raquis- <i>P. pulmonarius</i> | 0 | 0 | 0 | 0 ^d |
| T9 | Raquis- <i>Lentinula edodes</i> | 0 | 0 | 0 | 0 ^d |

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($\alpha < 0,05$).

La Tabla 3 se observa los valores de actividad de las enzimas celulasas en los diferentes tratamientos, la máxima actividad enzimática de celulasas fue producida por *Lentinula edodes* en pseudotallo con 8,14 UI/g de residuo seco. Se identificó también que el tratamiento Pseudotallo-*P. pulmonarius* da una actividad de 6,47 UI/g residuo seco, siendo esta una actividad considerable. No se obtuvo valores de actividad en el sustrato raquis, cuando se sembró *Pleurotus* y *Lentinula edodes*, lo que nos conduce a aseverar que el raquis no posee los requerimientos nutricionales adecuados para el crecimiento de estos hongos. El hongo *Lentinula edodes* tampoco creció en hojas de banano.

P. ostreatus ha sido reconocido como productor de enzimas lignolíticas [16], más que de celulasas y xilanasas. En el presente estudio la actividad de celulasas expresada por *P. ostreatus* fueron aparentemente superiores a los reportados por Marques et al., 2007 para *P. ostreatus* IE8, quien encontró una máxima actividad de 1,16 UI/g de residuo seco en 19 días de fermentación. En *Trametes sp.*, el valor que obtuvo Márquez es de 9,56

g/g de residuo seco, un poco más alto que el producido por *Lentinula edodes* (Shiitake) obtenido en este trabajo, que fue de 8,14 UI/g de residuo seco en 24 días de fermentación.

Aplicando un análisis de varianza se establece que existe diferencia altamente significativa ($\alpha < 0,01$) para los residuos (sustratos) y las interacciones AxB, más no existe diferencia significativa ($\alpha < 0,05$) en cepas, ni en replicas. Al no existir diferencia significativa en las cepas se entiende que para obtener la misma cantidad de enzimas celulasas podría trabajarse con *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* o *Lentinula edodes*.

3.3. Efecto de pH y temperatura en la actividad de las enzimas celulasas

Para conocer la influencia del tiempo y temperatura en la hidrólisis de la celulosa por parte de las enzimas celulasas extraídas del mejor tratamiento, se probaron distintos rangos, así para el efecto del tiempo en la hidrólisis se sometió a las enzimas celulasas a 6 horas de reacción con solución de CMC sal de sodio al 0,5%, y a las siguientes temperaturas: 50°C, temperatura óptima de la enzima, a 60°C y a 37°C.

Las hidrólisis de las enzimas se realizaron en un baño termostático con agitación de 100 rpm en sentido oscilatorio, las curvas de hidrólisis se presenta en la Figura 3, donde se evidencia que a la temperatura de 50°C produce la mayor cantidad de glucosa en 1000 ml

de sustrato. De ahí que, podemos decir que ha temperaturas superiores e inferiores a la óptima, la enzima produce menor cantidad de azúcares. También podemos visualizar que la actividad enzimática ocurre rápidamente durante la primera hora de reacción y alcanza la máxima actividad a las dos horas y media aproximadamente, pasado este tiempo la formación de glucosa no ocurre, es decir ya no se da el rompimiento de la molécula de CMC.

En la Figura 4, se observa que el pH de 5,3 se consigue la mayor actividad relativa de las celulasas en una hora de reacción, verificándose que la hidrólisis de la celulosa por acción de las celulasas se ve influenciada por la concentración de iones hidrogeno del medio, debido a que se afecta el grado de ionización de los aminoácidos del complejo enzima- sustrato [17].

A un pH menor a 5,3; la actividad de la enzima disminuye, y por ende la formación de glucosa es baja, lo mismo ocurre a un pH superior.

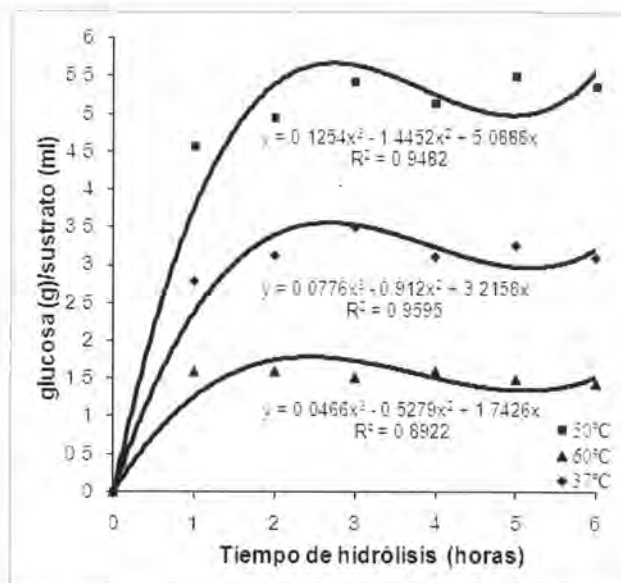


Figura 3. Actividad de las enzimas celulasas sobre sustrato carboximetil celulosa a diferentes tiempos y temperaturas.

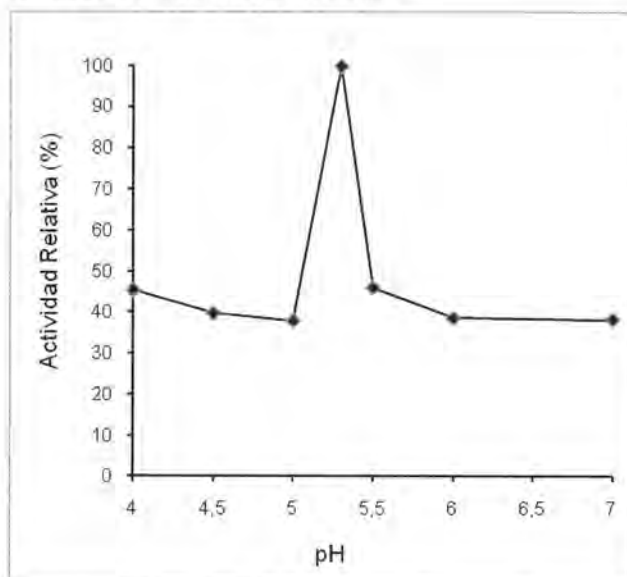


Figura 4. Actividad relativa de las Enzimas Celulasas sobre sustrato carboximetil celulosa a diferentes valores de pH en una hora de hidrólisis

La especificidad de la hidrólisis hace que las celulasas actúen a condiciones bastante específicas u óptimas de pH y temperatura, 5,3 y 50 °C respectivamente. Por lo tanto, la efectividad y reproducibilidad del tratamiento dependerá enormemente del control de estas dos variables. Por este motivo es recomendable el uso de soluciones tampón, que modifican la fuerza iónica del medio para una mejor hidrólisis [18].

3.4. Producción de bioalcohol

Para probar la efectividad del extracto de enzimas celulasas obtenidas, a los residuos secos del cultivo de banano (pseudotallo, raquis y hojas) se les aplicó a estos residuos un pretratamiento químico con hidróxido de calcio a 90° C por 90 horas. El hidróxido rompe estructura de la lignina, permitiendo la accesibilidad a la celulosa.

Una vez que el material celulósico estuvo listo, es decir, concluido el pretratamiento y ajustado el residuo a pH 5,3, se adicionó el extracto de las enzimas celulasas en una proporción de 12 UI/ g de residuos seco. Seguidamente se incubó a 50°C por 48 horas, al final de este tiempo se filtro y se obtuvo un líquido contenido de azúcares solubles, los que se les concentró hasta 6 °Brix. A los azúcares solubles se agregó levadura y nutrientes para someterlos a una fermentación alcohólica durante 9 días.

El resumen de los resultados obtenidos se indica en la Tabla 4, el mejor rendimiento de alcohol fue la relación de 26,71 ml de etanol por 100 g de residuo de raquis. El raquis tiene la mayor proporción de celulosa en su composición (49,52%) y mayor cantidad de fibra bruta (53,90%) con respecto a los a hojas y pseudotallo. El pseudotallo le sigue con respecto al rendimiento de alcohol producido con 20,89 ml etanol por 100 g de residuo y por último las hojas con 19,04 ml.

La alternativa de emplear residuos lignocelulósicos en la producción de etanol, constituye hoy día una posibilidad altamente prometedora por su amplia disponibilidad en el mundo. La existencia en los diversos países iberoamericanos, de abundantes recursos lignocelulósicos, justifica la dedicación por parte de estas naciones, de un esfuerzo importante al

desarrollo y adaptación de tecnologías tendientes a la utilización integral y racional de los mismos [19].

4. Conclusiones

Del análisis químico de los residuos lignocelulósicos del cultivo del banano: hojas, pseudotallo y raquis, se evidenció que la celulosa es la fracción mayoritaria de la parte lignocelulósica.

Se obtuvo enzimas celulasas por fermentación sólida de hongos comestibles *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* y *Lenitnula edodes*, utilizando como sustrato los residuos del cultivo de banano, siendo el mejor sustrato el pseudotallo que con la cepa *Lenitnula edodes* (*Shiitake*) produjo un extracto enzimático con la máxima actividad enzimática 8,14 UI/ g de sustrato seco. Así también se estableció que la temperatura y pH óptimos de la enzima es de 50°C y 5,3 respectivamente.

El proceso de producción de etanol celulósico a partir de biomasa lignocelulósica procedentes del cultivo del banano, como: hojas, pseudotallo y raquis, consta de cuatro pasos: (1) pretratamiento, por el que se liberan las fibras celulósicas del duro envoltorio de lignina de la biomasa vegetal, (2) sacarificación enzimática, por el que se disgregan las fibras celulósicas liberadas en azúcares simples, (3) fermentación de los azúcares, por el que los azúcares simples se transforman en etanol por la acción de microorganismos (normalmente levaduras), y (4) destilación, por la que se obtiene etanol de gran pureza por separación térmica del caldo de fermentación.

Se determinó que para la aplicación de concentrados enzimáticos en la tecnología de bioalcohol, es necesario realizar un pretratamiento, que puede ser alcalino como el que se realizó en este estudio con hidróxido de calcio a los residuos de banano para poder modificar la envoltura protectora alrededor de la celulosa compuesta por hemicelulosa y la lignina, y así permitir el acceso a la celulosa por parte de las enzimas celulasas. En estas condiciones es factible aplicar el extracto enzimático, el mismo que al transformar la celulosa a azúcares solubles y bajo la acción de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* se logró fermentar hasta obtenerse etanol, en una relación de 24,66 ml de etanol puro por 100g de raquis, siendo este el mejor rendimiento de alcohol producido.

Tabla 4. Cantidad de etanol obtenido a partir de 100 g de residuos de banano

| Tipo de residuo | Peso de los residuos secos sometidos al pretratamiento y luego a la hidrólisis enzimática | Volumen del líquido obtenido después de la hidrólisis con enzimas celulasas y la concentración a °Brix | Sólidos iniciales del líquido a fermentar | Sólidos solubles finales del líquido fermentado | Grado alcohólico del líquido fermentado | Relación volumen de etanol por 100 g de residuo seco |
|-----------------|---|--|---|---|---|--|
| | g | ml | °Brix | °Brix | °GL | ml etanol/100 g residuo |
| Hojas | 100 | 850 | 6 | 2 | 2,24 | 19,04 |
| Pseudotallo | 100 | 933 | 6 | 2,2 | 2,24 | 20,59 |
| Raquis | 100 | 822 | 6 | 2,2 | 3,25 | 26,71 |

La obtención de etanol a partir de los residuos de banano puede ser una alternativa económica y ambiental para los bananeros del país.

5. Recomendaciones

Se recomienda comparar otras técnicas de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica, aunque la aplicación de ácidos diluidos o álcalis diluidos son tecnologías conocidas para el pretratamiento de biomasa lignocelulósica, recientemente se han descrito otras tecnologías teóricamente más eficientes. Entre estas tecnologías están los pretratamientos de «explosión por vapor» y «explosión de fibras por amoniaco» (AFEX, por sus siglas en inglés), entre otras.

Examinar la estabilidad de las celulasas obtenidas, con el propósito de estudiar la actividad enzimática en relación al tiempo de almacenamiento del medio que contiene la enzima.

Además se recomienda investigar la obtención de enzimas celulasas a partir del hongo *Trichoderma reesei* utilizando como sustrato el pseudotallo de banano (*Musa cavendish*).

6. Agradecimientos

Un sincero agradecimiento a la Universidad Técnica de Ambato y al Centro de Investigaciones CENI por el financiamiento del presente proyecto. A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y a la Unidad Operativa de Investigaciones en Tecnología de Alimentos UOITA, por las facilidades brindadas a las diferentes actividades de investigación.

7. Referencias

[1] Ramírez, P. y Cocha, J. "Degradación de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica". *Rev. Peru. biol.* 1. (1):67-77(2003).

[2] Ponce, T. y Pérez, O. (2002) "Celulasas y xilanasas en la industria", Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav.

[3] Wang, J., Wang, J. and Gulfranz M. Efficient Cellulase Production from Corn Straw by *Trichoderma reesei* LW1 through Solid State Fermentation Process. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 2002, pp.19: 23-33.

[4] Vilchez, P., "Determinación de la actividad de exoglucanasas de cepas fúngicas nativas de las provincias de Huaylas y Huaraz", Tesis. Biólogo, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas. Lima, Perú, 2000. Disponible en <http://sisbib.unmsm.edu.pe/>.

[5] Mosquera C. y Rubio, B. (2000) "El reciclaje del papel, celulosa y *Trichoderma reesei*", Departamento de Química, Universidad del Cauca. Popayán,

[6] Rodríguez, I. y Piñeros, Y. (2007) "Producción de complejos enzimáticos celulolíticos mediante el cultivo en fase sólida de *Trichoderma sp.* sobre los racimos vacíos de palma de aceite como sustrato", Grupo de Aprovechamiento de Recursos Agroalimentarios, Programa Ingeniería de Alimentos, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia.

[7] Bao, M., Delgado S., García, M. & Torres, M. (1987) "Aprovechamiento de residuos de plataneras. I. Producción en Islas Canarias, sus características y alternativas de utilización". *Rev Agroquim Tecnol Aliment*, pp. 27:24-30.

[8] Ballesteros, M. 2006, "Carburantes sin petróleo: Bioetanol", *Investigación y ciencia*, ISSN 0210-136X, N° 362, 2006. pags. 78-85.

[9] Official Methods of Analysis of AOAC International, CD ROOM, 17th Edition, Current Trough Revision # 1, 2002.

[10] Núñez C., 2008, "Análisis Químico de la madera". Disponible en: <http://www.cenunez.com.ar>.

[11] Orea-Igarza, U.; Cordero E. y Gómez, R. (2006) "Estudio comparativo de la composición química de la corteza de tres especies de eucaliptos a tres alturas del fuste comercial", Centro de Estudios Forestales, Universidad de Pinar del Río, Cuba.

[12] Márquez A., Mendoza, G., González S., Buntinx S. y Loera O. (2007) "Actividad fibrolítica de enzimas producidas por *Trametes sp. eum1*, *Pleurotus ostreatus* IE8 y *Aspergillus Níger* AD96.4 en fermentación sólida", *Interciencia*, VOL. 32 N° 11.

[13]

Cardona C., Sánchez O., Ramírez J y Alzate L. (2004) "Biodegradación de residuos orgánicos de plazas de mercado". Revista Colombiana de Biotecnología, ISSN 1909-8758, Vol. 6, N°. 2, 2004, pp. 78-89.

[14] Métodos Oficiales de Análisis del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1986 Dirección General de Política Alimentaria. Tomo II, Madrid, España.

[14] Métodos Oficiales de Análisis del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1986 Dirección General de Política Alimentaria. Tomo II, Madrid, España.

[15] Viswanathan, K. et al., 1989, "Nutritive value of banana stalk (Musa cavendish) as a feed for sheep", India.

[16] Guillén-Navarro GK, Márquez-Rocha F, Sánchez Vázquez JE, 1998, "Producción de biomasa y enzimas lignolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido" Rev. Iberoam. Micol. 15: 302-306.

[17] Badui, S., 1993, "Química de los Alimentos", Editorial Pearson, México."

[18] Carrillo F., "Caracterización estructural de fibras lyocell y su comportamiento frente a procesos de degradación", Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Cataluña, España, 2002.

[19] Romano, S.; González E. y Laborde, M. 2005. "Combustibles Alternativos". Red CYTED. Nuevas Tecnologías para la obtención de Biocombustibles. Ediciones Cooperativas. Buenos Aires, Argentina.

El Efecto de la Sustitución de Grasa Animal (cerdo) por Grasa Vegetal (Danfat FRI – 1333) en la Formulación y Elaboración de Salchichas Frankfurt

Diego Banda Padilla¹, Diego Salazar Garcés²,

¹ y ² Universidad Técnica de Ambato, Ingeniería en Alimentos, Laboratorio de Procesamiento de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL), Campus Académico Huachi - Av, Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador

diegol4836@hotmail.com, dmsg1979@yahoo.com

RESUMEN

La investigación se enfocó a la elaboración de un nuevo producto, con sus principales materias primas y con la sustitución de grasa animal por grasa vegetal con el fin de obtener un producto de buena calidad con la aplicación de los conceptos de alimentos sanos con menor cantidad de grasas saturadas. En la elaboración de las muestras para su evaluación se tomó en cuenta dos factores principales: Porcentaje de sustitución de grasa (25%, 50% y 75%) y tipo de almidón (almidón de papa y almidón de yuca). La aplicación del diseño experimental determinó las combinaciones para los seis tratamientos evaluados por los catadores en cuanto a los atributos como: color, olor, sabor, consistencia y aceptabilidad. Se concluyó que el mejor tratamiento fue el A2B1 siendo estos: 75% grasa vegetal y 5% de almidón de papa. Para determinar el mejor tratamiento se llevó a cabo un análisis sensorial y análisis físico-químicos con los siguientes resultados: Humedad 67.87 (%), Cenizas 5.36 (%), Extracto Etéreo 24.06 (%), Proteína 35.36 (%), Fibra 1.31 (%) y Elementos libres de Nitrógeno 15.94 (%). Finalmente el análisis microbiológicos determinó el tiempo de vida útil del producto que fue de 28-30 días a una temperatura de 4°C. La salchicha elaborada tuvo características similares a otras salchichas de marcas comerciales pero con la diferencia de poseer un bajo contenido de grasas saturadas. El costo de producción al mejor tratamiento 75% de grasa vegetal y almidón de papa fue de \$2.55/libra tomando en cuenta materia prima, activos fijos, sueldos, suministros y utilidad.

Palabras clave: Sustitución, grasa animal, grasa vegetal, vida útil, almidón, salchicha.

INTRODUCCIÓN

Los embutidos ocupan un 16% de gasto total de alimentación a nivel mundial por lo que es necesario desarrollar nuevos ingredientes saludables que se ajusten a las exigencias del consumidor, tomando en cuenta el punto tecnológico y sensorial. En investigaciones realizadas a nivel mundial en España, la Universidad de Navarra esta analizando el desarrollo de nuevos productos cárnicos que tengan un valor agregado o funcional el mismo que tiene que ser el encargado de sustituir grasa animal por grasa vegetal para mejorar la calidad nutritiva de los embutidos, la investigación se lleva a cabo principalmente en el chorizo de Pamplona que es uno de los más consumidos en esta parte del mundo. De la misma manera estudios realizados sobre la producción de grasa para el consumo se tiene que las principales grasas vegetales utilizadas en la industria a nivel mundial son de soja, palma, colza y girasol.

La grasa puede entrar a formar parte de la masa del embutido bien infiltrada en los magros musculares o bien añadidos en forma de tocino; se trata de un componente esencial de los embutidos, ya que estos aportan determinadas características que influyen en forma positiva en su calidad sensorial; es importante la elección del tipo de grasa, ya que una grasa demasiado blanda contiene demasiados ácidos grasos insaturados que aceleran el enranciamiento y con ello la presentación de alteraciones de sabor y color, motivando además una menor capacidad de conservación.

Se distinguen dos tipos de grasa, la orgánica y la grasa de los tejidos.

La grasa orgánica es una grasa blanda, que normalmente se funde para la obtención de la manteca.

La grasa de los tejidos, como la dorsal, la de la pierna, de la papada, son grasas resistentes al corte, y se destinan a la elaboración de productos, pueden combinarse con proteínas o carbohidratos originando diferentes compuestos; son nutrientes fundamentales que desempeñan distintas funciones ser fuente de ácidos grasos esenciales, facilitar la absorción de vitaminas liposolubles, proteger los órganos contra fuertes impactos, entre otras.

Este nutriente se encuentra ampliamente distribuido tanto en el reino animal como en el vegetal. Si bien la grasa es imprescindible dentro de la dieta, si se consume en exceso puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de múltiples enfermedades (obesidad, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, cáncer, diabetes y alteraciones del colesterol, entre otras).

2. Materiales y Métodos

2.2 Materiales

Materia prima

- Carne de res
- Carne de cerdo 80/20
- Grasa de cerdo
- Grasa vegetal (Danfat FRI – 1333)
- Colorante (Carmín de cochinilla)
- Conservante (lactato)
- Condimentos
- Proteína aislada de soya
- Almidón de yuca y papa
- Sal
- Hielo
- Tripa de celulosa.

Equipos

Los equipos y materiales utilizados en el desarrollo de la fase experimental son detallados a continuación:

- Balanza analítica
- Cúter
- Molino de carne
- Embutidora
- Ollas de cocción

Los equipos necesarios para la determinación de vida útil son:

- Baño María
- Estufa
- Refrigerador
- Termómetro
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Incubadora Memmert regulable de 25 oC a 60 oC
- Licuadora
- Cocineta eléctrica
- Computadora

Los materiales necesarios para la determinación de vida útil son:

- Jarras Masón
- Cuchillo
- Erlenmeyer (Pirex) 250 cm³, 500 cm³
- Pipetas volumétricas de 1 cm³ y 10 cm³
- Cajas petri de 90mm x 15mm
- Probetas de 100 cm³, 250 cm³
- Tubos de bacteriológicos (Pirex)
- Agar SS, chromocult, PCA y PDA.

2.3 Métodos

La investigación se realizó en los Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, y en laboratorios de la UOITA.

2.3.1 Proceso de elaboración de la salchicha Frankfurt

Selección.- Se utilizó carne de res y carne magra de cerdos jóvenes con poco tejido conectivo, las cuales deben estar refrigeradas. Es una de las operaciones más importante en la elaboración de los productos cárnicos, que de la calidad de las materias primas depende la calidad del producto terminado; se pesan, se observan que estén en las condiciones deseadas y con las características relacionadas.

Troceado.- Las piezas de carne seleccionadas se cortan en trozos pequeños de aproximadamente 7 * 7 centímetros se lavan con agua .y seguidamente se congelan por 24 horas para facilitar la operación de molienda.

Formulación.- Se pesan todos y cada uno de los ingredientes para realizar la emulsión, como la carne, la grasa, el almidón, la proteína de soya, los condimentos, los aditivos, el hielo en escarcha y los demás que hagan parte del producto a fabricar.

Molienda.- Las carnes y la grasa se muelen, cada una por aparte. Para las carnes se usa un disco de 3 mm y para la grasa el disco de 8 mm. Primero se muele la grasa y después la carne, para evitar la pérdida de grasa en el molino. El molino para carne, puede ser manual o eléctrico, está compuesto de un cabezote, dentro de la cual se colocan el tornillo sinfín, una cuchilla en forma de estrella que no quema la carne, los discos, que hay en varios diámetros de orificio para diversos cortes y una rosca que fija estas piezas.

Picado y Mezclado.- Estas operaciones se realizan en forma simultánea en un equipo llamado cutter, el cual está provisto de cuchillas finas que pican finamente la carne y producen una mezcla homogénea. Al picar y mezclar se debe seguir el siguiente orden de agregación de los ingredientes:

1. Carne magra de cerdo y res, sal, fosfatos y condimentos, a velocidad lenta hasta obtener una masa gruesa pero homogénea.
2. Se aumenta la velocidad y se incorpora el hielo y colorante natural; se mezcla hasta obtener una masa fina y bien ligada.
3. Se incorpora la lonja o la carne de cerdo grasosa.
4. Se agrega la grasa vegetal y/o animal en las proporciones motivo de este estudio.
5. Se agregan los condimentos y los conservantes. La temperatura de la pasta no debe exceder de 12 °C.

Embutido.- La masa de carne se traslada a la máquina embutidora y allí se llena en fundas sintéticas celulósicas coextruídas de calibre entre 18 y 20 mm. El embutido de las salchichas Frankfurt debe efectuarse bastante suelto, para que la masa tenga espacio suficiente y no se reviente la tripa.

Atado.- Las salchichas se amarran en cadena, aproximadamente cada 10 centímetros, utilizando hilo de algodón.

Tratamiento térmico:

Se realiza en 3 fases:

- Calentamiento a 50°C entre 10 y 30 minutos según el calibre.
- Ahumado a 60-80°C durante 10-30 minutos según el calibre.
- Cocción en agua a 75-82°C por 10 minutos para salchichas delgadas, hasta alcanzar una temperatura interna de 74°C. en el punto frío.

Enfriamiento.- Después de la cocción la temperatura debe bajarse bruscamente mediante una ducha fría o con hielo picado.

Almacenamiento.- Las salchichas se cuelgan para que sequen y se almacenan bajo refrigeración.

2.3.2 Diseño Experimental.- Se utilizó un diseño factorial A*B, los niveles de nivel de estudio fueron:

A: sustitución de grasa

a0= 25%

a1= 50%

a2= 75%

B: almidón

b0= yuca 5%

b1= papa 5%

Para los análisis estadísticos se utilizó el paquete estadístico Statgraphic, complementado con una prueba de comparación múltiple de Tukey.

3. Resultados y Discusión

3.1 Análisis Sensorial

Para la determinación del mejor tratamiento se realizó un análisis sensorial, en donde se comparó características organolépticas como: aceptabilidad, sabor, color, olor y textura. Se utilizó a un panel de 15 catadores no entrenados a los cuales se les proporcionó 2 muestras aleatorias a cada catador, para apreciar cada uno de los atributos

mencionados. Para el análisis de los datos de la prueba sensorial del nuevo producto se utilizó un diseño de bloques incompletos.

El mejor tratamiento para aceptabilidad resultó la combinación A2B1 (tratamiento 6), correspondiente a la sustitución de 75% de grasa animal por grasa vegetal (Danfat FRI-1333) y la utilización de almidón de papa en un 5%.

3.2 Análisis Microbiológico y determinación del tiempo de vida útil.

El análisis microbiológico se lo realizó en el mejor tratamiento (tabla 1) en condiciones de temperatura ambiente y de refrigeración (19oC y 8oC), por un periodo de 30 días con diluciones de 100, 10-1 10-2,10-3, 10-4 .

Tabla 1. Evaluación microbiológica para el mejor tratamiento (A2B1).

| ANÁLISIS | RESULTADO | Unidad | MÉTODO |
|--------------------|-----------|--------|---------------|
| Escherichia coli | ausencia | UFC/g | NTE INEN 1338 |
| Salmonella | ausencia | UFC/g | |
| Enterobacteriaceae | Ausencia | UFC/g | |

Para poder determinar el tiempo de vida útil se aplicó la ecuación (1) enunciada por Alvarado, J. (1996), que indica que si graficamos ln de UFC/g de bacterias vs tiempo en segundos (figura 1 y 2) se ajustaría a una ecuación lineal de crecimiento de microorganismos.

Para esto se consideró recuento de mohos, levaduras y de Enterobacteriaceae (tabla 2) basándose en normas como las ecuatorianas (INEN) y la venezolana (COVENIN).

Ecuación 1.

$$\ln C = kt + \ln Co$$

C = parámetro escogido como límite de tiempo de vida útil

Co = concentración inicial

t = tiempo de reacción

k = constante de velocidad de reacción

Tabla 2. Recuento de mohos, levaduras y aerobios totales en el Mejor Tratamiento (A2B1) para la determinación de vida útil.

| Tiempo Días | Mohos y Levaduras | | Aerobios Totales | |
|----------------|----------------------|-----------|----------------------|-----------|
| | Promedio | Ln ufc/gr | Promedio | Ln ufc/gr |
| 0 | 4,00*10 ⁰ | 1,3862 | 2,90*10 ⁴ | 10,2750 |
| 1 | 1,05*10 ¹ | 2,3513 | 3,50*10 ⁴ | 10,4631 |
| 7 | 2,35*10 ¹ | 3,1570 | 4,30*10 ⁴ | 10,6689 |
| 8 | 2,50*10 ¹ | 3,2188 | 6,40*10 ⁴ | 11,0666 |
| 9 | 3,00*10 ¹ | 3,4011 | 7,50*10 ⁴ | 11,2252 |
| 14 | 6,00*10 ¹ | 4,0943 | 8,80*10 ⁴ | 11,3850 |
| 17 | 7,00*10 ¹ | 4,2484 | 9,58*10 ⁴ | 11,4694 |
| 20 | 7,50*10 ¹ | 4,3174 | 9,88*10 ⁴ | 11,5003 |

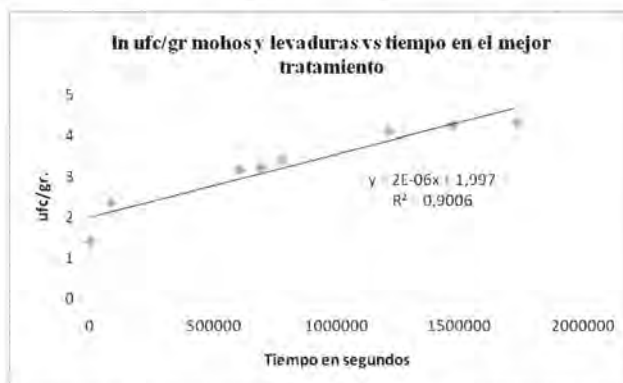


Figura 1. Ln. (ufc/gr) mohos y levaduras vs tiempo en el mejor tratamiento A2B1

Al realizar los cálculos pertinentes para determinar el tiempo de vida útil por medio de análisis de mohos y levaduras en la salchicha Frankfurt con un 75% de grasa vegetal que fue el mejor tratamiento se determinó que el tiempo de vida útil a temperaturas de refrigeración (5°C) es de 28 días, con una dilución de 10-1. Durante los primeros 15 días la salchicha poseían las mismas características organolépticas que al inicio de su producción, a partir de los 22 días se dio un notable cambio de color y olor a rancidez por lo que se asume que la grasa vegetal fué un factor que influyó en los cambios organolépticos.



Figura 2. Ln. (ufc/gr) aerobios totales vs tiempo en el mejor tratamiento A2B1

Al realizar los cálculos pertinentes para determinar el tiempo de vida útil mediante análisis de aerobios totales en la salchicha Frankfurt con un 75% de grasa vegetal que fué el mejor tratamiento se determinó que el tiempo de vida útil a temperaturas de refrigeración (5°C) es de 30 días con una dilución de 10-4, durante los primeros 15 días la salchichas poseían las mismas características organolépticas que al inicio de su producción. A partir de los 22 días se dio un notable cambio de color y olor a rancidez por lo que se asume que la grasa vegetal fué un factor que influyó en los cambios organolépticos.

3.3 Análisis de costos

Se realizó un análisis de costos tanto para la investigación como para una empresa de embutidos, con valores de materia prima para cada uno.

Por medio de este estudio económico se determinó el valor de producción de las salchichas tipo Frankfurt con la sustitución de grasa vegetal en un 75% de la formulación y con la utilización de 5% de almidón de papa, se comparó costos tanto de la investigación como de una planta industrial teniendo una diferencia de 0.11ctvs, que corresponde al 4.31% de costo más alto, esto se debe a que a nivel de investigación los costos de la materia prima en especial de las carnes son muchos más altos ya que se compra a terceros y en pequeñas cantidades, mientras que a nivel industrial se compran a proveedores mayoristas y en grandes cantidades por lo que su precio es menor.

El precio que se obtuvo a nivel de investigación también es aceptable y accesible para el consumidor ya que debe tener en cuenta que esta consumiendo un producto sano.

3.4 Análisis físico-químicos

Para obtener los análisis físico-químicos del mejor tratamiento, la muestra fue enviada al laboratorio del INIAP (Estación Experimental Santa Catalina).

Tabla 3. Informe de análisis proximal de la salchicha tipo Frankfurt con 75% de grasa vegetal y 5% de almidón de papa.

| ANÁLISIS | VALOR | UNIDAD |
|----------|-------|--------|
| Humedad | 67,87 | % |
| Cenizas | 7,35 | % |
| E.E. | 24 | % |
| Proteína | 35,36 | % |
| Fibra | 1,31 | % |
| E.L.N | 15,94 | % |

Fuente: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias

Los resultados obtenidos del análisis proximal (tabla 3) se localizaron dentro de los rangos establecidos en la norma INEN 1338:96, es decir: según el INEN: Humedad: 65%, Cenizas: 5%, Proteína: mín. 12%, Grasa total: máx. 25%, los datos reportados por el INIAP son: Humedad: 67,87%, Cenizas: 5,35%, Proteína: 35,36%, Grasa total: 24%, lo que indicó que el producto es apto para el consumo y su respectiva comercialización.

4. Conclusiones

En la investigación se realizó la sustitución la grasa animal por grasa vegetal Danfat-FRI 1333 en un porcentaje del 75%, en la elaboración de salchichas tipo Frankfurt, y con la utilización de 5% de almidón de papa, este tratamiento (A2B1) obtuvo buena aceptación con una media de 4.4 por parte de los catadores no entrenados que determinó el mejor tratamiento, durante el análisis sensorial realizado. La determinación de vida útil fué valorada en función de un seguimiento microbiológico, para el recuento de mohos y levaduras se manejó como estándares la norma venezolana COVENIN 1337 y para aerobios totales la norma ecuatoriana INEN 1338; los valores

de vida útil se obtuvo mediante la aplicación del método propuesto por Alvarado, resultando un tiempo de vida útil de 28 a 30 días a una temperatura de 4°C. Los resultados obtenidos del análisis proximal (físico – químicos) realizados en el INIAP (Estación Experimental Santa Catalina) se localizaron dentro de los rangos establecidos en la norma INEN 1338:96,

5. Referencias

• ACURIO, F. y ARÉVALO N. 2000 "Sustitución Parcial de Carne de Res con Carne de Trucha Arco Iris (*Salmo gairdneri*) en la Elaboración de Salchichas

Tipo Frankfurt" Tesis de Grado UTA. FCIAL. Ambato – Ecuador

• A.E. Riemann, T.C. Lanier, and K.R. Swartz. "Rapid Heating Effects on Gelation of Muscle Proteins".

• ALVARADO, Juan; 1996, "Principios de ingeniería Aplicados a Alimentos," Ed. Radiocomunicaciones; Quito- Ecuador, pp 372-398.

• AOAC. Association of Official Analytical Chemist. 12th ed. Washington, D.C

• BLANCO, Jorge. Alimentos como escudos contra el cáncer. En. Salud y vida [en línea] 27 de Junio de 2005 <<http://www.sld.cu/saludvida/nutrición/temas>>.

• BELIZ, H. y GROSC, W. 1985. "Química de los Alimentos". Edit. Acribia. Zaragoza – España

• BOGNER Hermann 1969 "Tecnología de la Carne", Edición única, Editorial Acribia, Zaragoza – España, 115 pp.

• CARBALLO, J. BARRETO, G. "Starch and egg White influence on properties of Bologna sausage related to fat content

• CORETTI, K 1971. "Embutidos: Elaboración y Defectos". Edit. Acribia. Zaragoza – España.

• CORREDOR, Carlos. Efectos del Consumo de Aceite de Palma sobre el Colesterol Sérico. Documento del Programa de Salud y Nutrición Humana.

• F.A.O. 1987. "Alimentación y Nutrición". 70p.

• FENNEMA, O. 1982. "Introducción a la Ciencia de los alimentos". Edit. Reverté Barcelona.

• FREY, W. 1983. "Fabricación Fiable de Embutidos". Zaragoza – España.

• FORTIN, J.; DESPLANCKE, C. 2001 "Guía de selección y entrenamiento de un panel de catadores" Editorial Acribia. Zaragoza España

• GIRARD J.P. 1991 "Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos", Edición única, Editorial Acribia, Zaragoza – España.

• GARCÍA, M. 1985. "Manual del Cachinero". Ed. Sintesis. Barcelona

• HERRERA e. LUIS, MEDINA f. Arnaldo, NARANJO L. Galo (2004), "Tutoría de la Investigación Científica", Diemerino Editores. Quito – Ecuador. 252 pp.

• ICMSF 1985. "Microorganismos de los Alimentos". Edit. Acribia. Zaragoza – España

• INEN. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito – Ecuador.

• LEES, R. 1969. "Análisis de los Alimentos. Edit. Acribia. Zaragoza – España.

• MACKEY, A. y FLORES DE MÁRQUEZ, I. 1984. "Evaluación Sensorial de los Alimentos" Segunda Edición. San Felipe – Venezuela.

• MORENO, N. Y VILLACIS, C. 1998. "Determinación de la Vida Útil de Salchichas Frankfurt", Tesis de Grado. UTA, FCIAL. Ambato – Ecuador.

• NAVARRO, Iñigo; "CARNISENUSA Consolider-Ingenio 2010, Universidad de Navarra" Pamplona. Navarra (España)

• PRICE, J.F. y SCHWERSGERT, B.S. 1976. "Ciencia de la Carne y los Productos Cárnicos". Edit. Acribia. S.A. Zaragoza – España.

- SALTOS Aníbal (1993) "Diseño Experimental" ", Edición única, Ambato – Ecuador, 111 pp.
- SANCHO, J. BOTA, e. de CASTRO, J.J. "Introducción al análisis sensorial de los alimentos" Editorial Alfaomega. México, D.F.
- SANZ, E. 1985. "Enciclopedia de la Carne". Segunda Edición. Edit. España – Calpe. S.A. Madrid – España.
- UNLU, NURAY Z. BOHN, TORSTEN. CLINTON, and, STEVEN K. "Carotenoid Absorption from Salad and Salsa by Humans is Enhanced by Addition of Avocado or Avocado Oil
- WATTS, B.; YLIMAKI, G.; JEFFERY, L. y ELIAS, L. 1992. "Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos". Centro de Investigaciones para el Desarrollo. Ottawa.

DESARROLLO DE LA TECNOLOGÍA EN LA FORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE BOTÓN PAISA Y LONGANIZA PARA MEJORAR LAS OPORTUNIDADES COMERCIALES DE LA EMPRESA ARTESANAL SAN DAMIÁN

*Dina Elizabeth Pérez Yaguargos
Ing. Diego Salazar*

Universidad Técnica de Ambato
Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
AMBATO-ECUADOR
E-mail: elizabeth_5031@hotmail.com

Palabras clave: Botón paisa, Longaniza, tiempo de vida útil, desarrollo de la tecnología, oportunidades comerciales

RESUMEN

La investigación establece el desarrollo de la formulación y tecnología de dos productos cárnicos (botón paisa y longaniza), estudio del proceso, análisis microbiológico y costos, para mejorar la producción y ventas, los mismos que serán elaborados bajo especificaciones de calidad e inocuidad para satisfacer los requerimientos de los clientes.

En la investigación se diseñó cuatro formulaciones para cada producto, variando en los porcentajes de materia prima, a las cuales se evaluó mediante análisis sensorial las características organolépticas y mediante los resultados obtenidos se obtuvo la mejor formulación y así mejorar las oportunidades comerciales de la empresa Artesanal San Damián.

A las mejores formulaciones se realizaron, análisis físico-químicos y microbiológicos, además se determinó el tiempo de vida útil de los productos, conservados a temperatura de refrigeración. Los principales resultados indican que el empleo de la formulación y tecnología adecuada brindan productos de mayor calidad sensorial, lo que ayudará a la empresa a mejorar las ventas en el mercado.

INTRODUCCIÓN

En alimentación se denomina embutido a una pieza, generalmente de carne picada y condimentada con hierbas aromáticas y diferentes especias (pimienta, ajos, clavo de olor, nuez moscada) que es introducida ("embutida") en piel de tripas de cerdo, borrego y artificiales. Su forma de curación ha hecho que sea fácilmente conservable a lo largo de relativamente largos periodos de tiempo.

En la actualidad, el mercado lo manejan más de 130 marcas, de las cuales el 60% pertenece a la industria formal y el 40% a la producción informal que es una fuente importante de consumo. La producción de estos embutidos es cuestionada por la mezcla de carnes y harinas de manera ilegal y por su comercialización, que la mayoría de veces, se la hace al aire libre.

Para realizar un diseño de fórmula se analiza asesoramiento de tecnólogos experimentados. Posteriormente, se efectúan todas aquellas pruebas de campo o experiencias de elaboración en pequeña escala, de forma de ir evaluando a grandes rasgos el tipo de producto elaborado desde el punto de vista de: presentación, envase, aspecto exterior, caracteres organolépticos: sabor, olor, color, textura, mermas, rendimientos, estudio de costes, rentabilidad, entre otras.

Por lo que es importante desarrollar la tecnología en la formulación y elaboración de botón paisa y longaniza para mejorar las oportunidades comerciales de la empresa artesanal San Damián.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Para la fabricación de este tipo de embutidos se utilizó carne de res y carne magra, condimentos, tripas naturales de cerdo y borrego.

Método

Recepción y Selección

Se usa carne de res y carne magra de cerdos jóvenes con poco tejido conectivo, las cuales deben estar refrigeradas, se escogen carnes capaces de fijar agua con facilidad, obtener una masa consistente y tenaz de sabor fuerte.

Troceado

Las piezas de carnes seleccionadas se cortan en trozos pequeños de aproximadamente 5 a 10 cm, se lavan con agua limpia y seguidamente se congelan por 24 horas.

Molido

Las carnes y la grasa se muelen, cada una por separado. Para las carnes se usa un disco de 3 mm y para la grasa el disco de 6 mm.

Cuterado

Para el desmenuzado de la carne hace falta el equipo de cuterado, durante el proceso se agrega simultáneamente agua fría o hielo picado, evitando que la máquina gire vacía, por el peligro de recalentamiento de la carne. La masa esta lista cuando adquiere una consistencia blanda elástica y flexible

Al picar y mezclar se debe seguir el siguiente orden de agregación de los ingredientes:

1. Carne magra de cerdo y res, sal y fosfatos, a velocidad lenta hasta obtener una masa gruesa pero homogénea.

2. Se incorpora el hielo; se bate hasta obtener una masa fina y bien ligada.
3. Se incorpora la carne de cerdo grasosa.
4. Se agregan los condimentos y los conservantes.

Embutido y Atado

Antes de introducir la pasta en las tripas, estas deben prepararse bien (introducir en agua 30 minutos antes de embutir), para que el proceso de elaboración no sufra demoras y quede garantizado un relleno y atado correcto.

La pasta de los embutidos escaldados se introduce en la tripa correspondiente con la ayuda de máquinas rellenas. Posteriormente los botones se atan con piola de amarre en forma de cadena.

Cocción y Ahumado

El embutido se encuentra escaldado por completo, cuando su textura es dura y flexible en toda su extensión. El tiempo depende de la temperatura de la cámara, del diámetro de las piezas y de la intensidad del ahumado. Durante este proceso el embutido pierde de un 10 al 20 % de su peso inicial.

Enfriado, Pesado y Empacado

Terminada la acción del vapor (agua caliente), se extraen los embutidos y se enfrían bajo una ducha y se dejan desecar para posteriormente pesarlos y empacarlos

Almacenado

Si los embutidos escaldados no se van a comercializar inmediatamente, después del enfriado se almacenarán a una temperatura de 4 - 8 °C, con humedad relativa del 75 - 80 %.

Diseño Experimental

Se aplicaron dos diseños: Diseño de un factor completamente aleatorizado, el que permitió conocer si las formulaciones utilizadas en la fabricación de botón paiza y longaniza tienen un efecto significativo sobre las características de los productos.

Tabla 1 "Formulación para Botón Paisa"

| Materia Prima | F 1 | F 2 | F 3 | F 4 |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Carne de Res | 34% | 38% | 42% | 41% |
| Carne de Cerdo | 35% | 25% | 15% | 10% |
| Grasa | 20% | 25% | 30% | 35% |
| Almidón | 1% | 2% | 3% | 4% |
| Agua | 10% | 10% | 10% | 10% |
| Total | 100% | 100% | 100% | 100% |
| Condimentación | | | | |
| Comino | 12,0 g | | | |
| Orégano | 12,0 g | | | |
| Glutamato Mono sódico | 12,0 g | | | |
| Ajo fresco | 42,0 g | | | |
| Sal | 48,0 g | | | |
| Pimienta Blanca | 1,7 g | | | |
| Fosfato k7 | 1,8 g | | | |
| Acido ascórbico | 1,8 g | | | |
| Sorbato de Potasio | 1,8 g | | | |
| Nitrito | 0,4 g | | | |
| Hierbitas | 12,8 g | | | |

Elaborado por: Dina E. Pérez Y.

Además de un diseño de bloques completos, útil para analizar situaciones en las cuales las respuestas de las unidades experimentales a los tratamientos no son homogéneas en este caso se apreció la aceptabilidad de la elaboración del botón paisa y longaniza, en la que se evaluó: color, olor, textura, sabor y aceptabilidad.

Tratamientos

Se diseñó cuatro formulaciones para cada producto cárnico, variando en los porcentajes de materia prima como son: carne de res, carne de cerdo, grasa y almidón, como se indica en la tabla 1 y 2.

Tabla 2 "Formulación para Longaniza"

| Materia Prima | F 1 | F 2 | F 3 | F 4 |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Carne de Res | 34% | 38% | 42% | 41% |
| Carne de Cerdo | 35% | 25% | 15% | 10% |
| Grasa | 20% | 25% | 30% | 35% |
| Almidón | 1% | 2% | 3% | 4% |
| Agua | 10% | 10% | 10% | 10% |
| Total | 100% | 100% | 100% | 100% |
| Condimentación | | | | |
| Comino | 4,8 g | | | |
| Orégano | 4,8 g | | | |
| Glutamato Mono sódico | 6,0 g | | | |
| Ajo fresco | 42,0 g | | | |
| Sal | 48,0 g | | | |
| Pimienta negra | 1,7 g | | | |
| Pimienta Blanca | 1,7 g | | | |
| Fosfato k7 | 1,8 g | | | |
| Acido ascórbico | 1,8 g | | | |
| Sorbato de Potasio | 1,8 g | | | |
| Nitrito | 0,4 g | | | |

Tabla 2 "Formulación para Longaniza"

Análisis estadístico

Para comparar la significación de las diferencias que pudieran aparecer entre las formulaciones aplicadas, se realizaron análisis multifactoriales de la varianza con la ayuda del paquete informático Statgraphics 5.0. En estos análisis se consideraron como variables dependientes las propiedades organolépticas del botón paisa y longaniza.

Análisis Microbiológicos

Escherichia coli

Se la realiza por cuenta en placa utilizando como medio selectivo agar Chromocult, este tipo de pruebas sirven para la detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo y en la fabricación de los alimentos; así como de equipos.

Salmonella y Shigella

La Salmonella y Shigella son bacterias patógenas gram negativas y para detectarlas se utilizó como medio selectivo, SS-Agar en 25 g de muestra.

Determinación del tiempo de vida útil - Mesófilos Aeróbios

Tabla 3 "Medias de la prueba sensorial de calidad y aceptación del Botón paisa"

| Atributo de Calidad Sensorial | Promedio de las muestras | | | |
|-------------------------------|--------------------------|-----|-----|-----|
| | 503 | 289 | 781 | 226 |
| Color | 2 | 2 | 2 | 1,8 |
| Olor | 1,6 | 1,9 | 1,8 | 1,9 |
| Sabor | 1,9 | 1,8 | 1,6 | 1,7 |
| Textura | 1,9 | 1,8 | 1,8 | 1,7 |
| Aceptabilidad | 1,7 | 1,7 | 1,7 | 1,7 |

Elaborado por: Dina E. Pérez Y.

En el recuento estándar en placa (REP) se utilizó 10 gr de los productos cárnicos, disueltos en 90 ml de agua peptonada, se sembraron en placa en o sobre un medio de agar PCA (Plate Count Agar), se incubaron a una temperatura de 30 °C por 48 horas y posteriormente se contaron todas las colonias visibles mediante un contador Quebec.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis Sensorial

Productos cárnicos fueron catados obteniéndose que los ensayos con mejores características sensoriales, es con carne de res 41%, Carne de Cerdo 10% Grasa 35%, y Almidón 4%. Esta formulación tuvo mayor aceptación por los catadores, debido al conjunto diferenciado de características organolépticas, además que brinda a la empresa réditos económicos y lo primordial que se ha logrado prolongar el tiempo de vida útil de los embutidos, manteniendo los atributos que el consumidor prefiere y su calidad para mantenerse competitiva dentro del mercado.

Tabla 4 "Medias de la prueba sensorial de calidad y aceptación de la longaniza"

| Atributo de Calidad Sensorial | Promedio de las muestras | | | |
|-------------------------------|--------------------------|-----|-----|-----|
| | 501 | 287 | 762 | 286 |
| Color | 2,1 | 2 | 2 | 2,1 |
| Olor | 1,9 | 2,3 | 1,8 | 1,8 |
| Sabor | 2 | 1,8 | 1,7 | 1,6 |
| Textura | 1,9 | 1,9 | 1,8 | 1,9 |
| Aceptabilidad | 1,8 | 1,7 | 1,5 | 2 |

Elaborado por: Dina E. Pérez Y.

ANÁLISIS DE LOS MEJORES TRATAMIENTOS

Análisis Proximal.

Tabla 5 "Botón Paisa"

| Análisis | B.S (%) | B.H (%) |
|----------|---------|---------|
| Humedad | 53,08 | 46,92 |
| Cenizas | 7,63 | 3,57 |
| Grasa | 58,31 | 27,35 |
| Proteína | 28,45 | 13,34 |
| Fibra | 3,35 | 1,57 |
| E.L.N | 2,26 | 1,06 |

Fuente: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP
 Elaborado por: Dina E. Pérez Y.
 Tabla 6 "Longaniza"

| Análisis | B.S (%) | B.H (%) |
|-----------------|--------------------|--------------------|
| Humedad | 53,08 | 46,92 |
| Cenizas | 7,63 | 3,57 |
| Grasa | 58,31 | 27,35 |
| Proteína | 28,45 | 13,34 |
| Fibra | 3,35 | 1,57 |
| E.L.N | 2,26 | 1,06 |

Fuente: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP
 Elaborado por: Dina E. Pérez Y.

En la Tabla 5 y 6 se presentan los resultados de la composición de cada producto cárnico, en el contenido de agua, el botón paisa es de 46.92% y 49.13% en la longaniza, que se considera aptos para la buena conservación de este tipo de alimentos.

El porcentaje de cenizas de los productos cárnicos es 3,57 % y 3,44% del botón paisa y longaniza respectivamente, valores que se encuentran dentro de los señalados en la literatura, de 5% en las normas INEN.

La grasa o contenido lipídico en el botón paisa posee un 27,35% mientras que la longaniza tiene un menor porcentaje siendo de 23,50%. En la norma menciona un 25% de grasa total.

Las proteínas de la carne son en gran parte las de los tejidos muscular y conectivo; aunque el músculo contiene aproximadamente del 18 – 22% de proteínas, tal cantidad varía bastante en muchos productos cárnicos y lo hace inversamente con la cantidad de grasa presente.

Dependiendo de los ingredientes que se utilice en la formulación y la cantidad de grasa que cada formulación, será el contenido de proteínas en este caso del botón paisa es 13,34% y de la longaniza es 8,25% lo que indica que el botón paisa aporta con una cantidad mayor de proteínas en relación a la longaniza. En normas INEN indican que los productos cárnicos deben aportar con un 12% de proteínas. Considérese que la fibra es de 1,57% en el botón paisa y 1,68% en la longaniza, cantidades similares en ambos casos.

Además el contenido de carbohidratos en los productos cárnicos es de 1,06% y 12,22% respectivamente, advirtiéndose una gran diferencia y aporte del mismo, a pesar de que los dos poseen el mismo porcentaje de materias primas.

Análisis Microbiológico

Escherichia coli

Durante el ensayo realizado a los dos tipos de productos cárnicos se obtuvo que la prueba del recuento de coliformes mostró negativa.

Salmonella y Shigella

En este caso la prueba para Salmonella y Shigella resulto ausente, es decir no se detectaron colonias sospechosas en 25 g de muestra.

Determinación del tiempo de vida útil - Mesófilos Aeróbios

Las evaluaciones fueron efectuadas para observar la estabilidad de los productos cárnicos durante el tiempo de almacenamiento (a 4°C).

Se obtuvieron los resultados reportados en la tabla 7, los promedios de las ufc/gr de los mesófilos aeróbios de cada producto, para ello se trabajo con tres réplicas para tener una mejor percepción del conteo de colonias, al final se descartó la réplica con mayor probabilidad de error, nótese que fueron evaluados cada dos días hasta cumplir el mes de ensayo pues organolépticamente los productos cárnicos empezaron a presentar cambios en su color, olor y aspecto.

Tabla 7 "Mesófilos aeróbios"

| Dias | Botón Paisa (ufc/g) | Longaniza (ufc/g) |
|------|-----------------------|-----------------------|
| 0 | ≤0,001 E ³ | ≤0,001 E ³ |
| 3 | 0,004 E ³ | 0,006 E ³ |
| 5 | 0,007 E ³ | 0,009 E ³ |
| 7 | 0,012 E ⁴ | 0,012 E ³ |
| 9 | 0,016 E ⁴ | 0,015 E ⁴ |
| 12 | 0,021 E ⁴ | 0,022 E ⁴ |
| 14 | 0,036 E ⁴ | 0,023 E ⁴ |
| 16 | 0,061 E ⁴ | 0,026 E ⁴ |
| 19 | 0,072 E ⁴ | 0,041 E ⁴ |
| 21 | 0,081 E ⁴ | 0,044 E ⁴ |
| 23 | 0,084 E ⁴ | 0,046 E ⁴ |
| 26 | 0,121 E ⁵ | 0,059 E ⁴ |
| 28 | 0,133 E ⁵ | 0,064 E ⁴ |
| 30 | 0,180E ⁵ | 0,081 E ⁴ |

Fuente: UOITA
Elaborado por: Dina E. Pérez Y.

En primer lugar se ha determinado el orden de reacción mediante el método de vidas medias que se define como el tiempo necesario para que la concentración inicial del reactivo tomado como referencia se reduzca a la mitad. Para determinar el orden de reacción se aplica la ecuación de Cadena (1978):

$$m = \frac{\log(t_3 - t_2) - \log(t_2 - t_1)}{\log[A_1] - \log[A_2]} + 1$$

En ambos casos el orden de reacción es de 1, entonces se procede a determinar el tiempo de vida útil tanto del botón paisa y longaniza, utilizando la siguiente ecuación:

$$\ln(C) = \ln C_0 \pm kt$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Donde:

C = Parámetro escogido como límite de tiempo de vida útil.

Co= Concentración inicial

t = Tiempo de reacción

k = Constante de velocidad de reacción

En el gráfico 1 y 2 se muestra el crecimiento microbiano para el botón paisa y longaniza respectivamente señalando la ecuación lineal para determinar el tiempo de vida útil.

Gráfico 1 "ln ufc/g vs tiempo de almacenamiento"

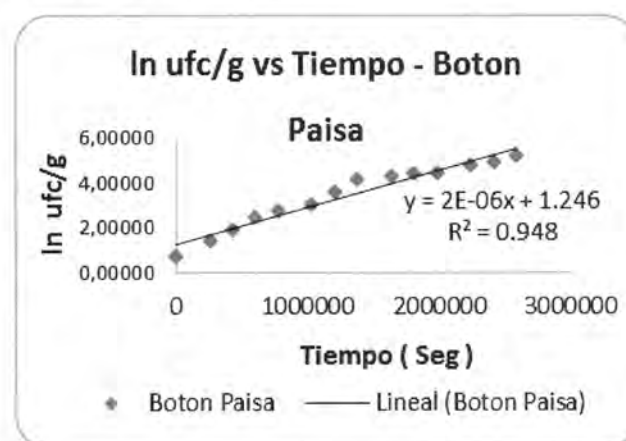
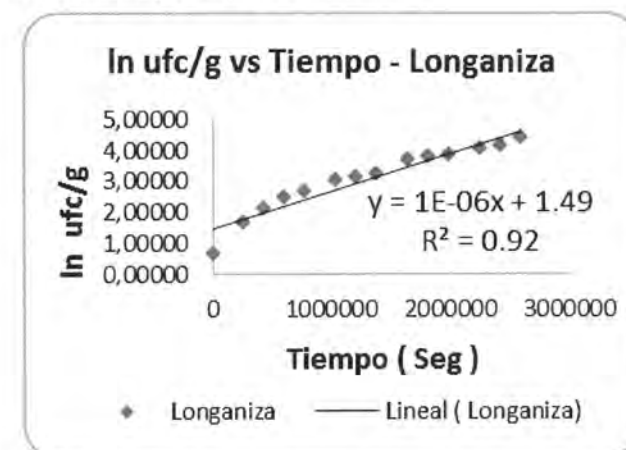


Tabla 7 "Mesófilos aeróbios"
Gráfico 2 "ln ufc/g vs tiempo de almacenamiento"



Elaborado por: Dina E. Pérez Y.

Se ha demostrado que a 4 °C la vida "útil del botón paísa es de alrededor de 26 días, y para la longaniza posee un tiempo de 43 días, este valor teórico puede variar de acuerdo a los cambios que se presenten en el transcurso del almacenamiento y a las condiciones en que esté expuesto el embutido.

CONCLUSIONES

Se desarrolló la tecnología en la elaboración de botón paísa y longaniza, tomando en consideración variantes en los porcentajes de materia prima: para asegurar la preservación de las mismas se utilizó el curado, posteriormente se añadió los ingredientes en las cantidades exactas para brindar al producto las características organolépticas que el consumidor prefiere; fueron sometidos al equipo de coterado para conseguir una pasta bien trabada y embutida en tripas naturales, un escaldado (75°C/15 min) y ahumado (100°C/20 min), estos hacen que el producto adquiera una superficie lisa y sin arrugas, dando así un acabado elegante, exento de defectos, siendo llamativo a la vista del consumidor y así mejorar las oportunidades comerciales de la empresa artesanal San Damián.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARONE Luis (1998) "Súper Diccionario Escolar Lexus" Edición única, Editorial Lerner Ltda, Bogotá – Colombia.
2. BOGNER Hermann (1969) "Tecnología de la Carne", Edición única, Editorial Acribia, Zaragoza – España, 115 pp.
3. CANEDA Rodolfo, (1978) "Cinética Química", Edición única, Editorial Acribia, Washington D.C, 114 pp.
4. Constitución Política de la República del Ecuador (2008), "Gaceta constituyente", Constitución de la República del Ecuador.
5. DURAND Paule (2002) "Tecnología de los Productos de Charcutería y Salazones", Edición "única, Editorial Acribia, Zaragoza – España, 556 pp.
6. FELLOWS P, (1994) "Tecnología del Proceso de los Alimentos", Edición única, Editorial Acribia, Zaragoza – España, 549 pp.
7. FORREST John (1979) "Fundamentos de la Ciencia de la Carne, Edición única, Editorial Acribia, S.A., Zaragoza – España, 364 pp.
8. FORSYTHE S.J. y HAYES P.R. (2002), "Higiene de los Alimentos, Microbiología y HACCP", Edición segunda, Editorial Acribia, S.A., Zaragoza – España, 489 pp.
9. FRAZIER W.C y WESTHOFF D.C, (2003) "Microbiología de los Alimentos" Edición cuarta española, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza – España, 681 pp.
10. FREY Werner (1983) "Fabricación Fiable de Embutidos" Edición única, Editorial Acribia, Zaragoza – España, 194 pp.
11. GIRARD J.P, (1991) "Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos", Edición única, Editorial Acribia, Zaragoza – España.
12. JAY James (1978) "Microbiología Moderna de los Alimentos", Edición segunda, Editorial Acribia, Zaragoza – España, 491 pp.
13. LÓPEZ Verónica (2008) "Elaboración de Salchichas Escaldadas Empleando Diversos Porcentajes de Pollo (*Gallus gallus domestic*), seta *pleurotus ostreatus* y champiñón (*Agdrius bisporus*)" UTA – FCIAL
14. MARTÍNEZ PALACIOS Enmmauel, (2004) "Código y Régimen Legal de Salud", Legislación Modificada, Corporación de Estudios Y Publicaciones, Tomo II.
15. Ministerio de Industrias y Productividad MIPRO, (2010) Ambato – Ecuador.
16. MORALES Danilo (1984) "Carnes: Tecnología de Elaboración de Embutidos Escaldados" Volumen 2 Ambato –Ecuador.
17. MORENO Nely y VILLACÍS Carolina (1998) "Determinación del tiempo de vida "útil en Salchichas Frankfurt", UTA – FCIAL 128 pp
18. NIINIVAARA Fritz y ANTLA Pirklo, (1973) "Valor Nutritivo de la Carne", Editorial Acribia, S.A, Zaragoza – España, 184 pp.
19. Noma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 338: 1996 "Carne y productos cárnicos, Salchichas", Edición Primera.
20. Noma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 344: 1996 "Carne y productos cárnicos, Chorizo", Edición Primera.
21. Noma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 774: 1985 "Carne y productos cárnicos, Chacinados, Clasificación y designación".

21. Noma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 774: 1985 "Carne y productos cárnicos, Chacinados, Clasificación y designación".
22. PAZMIÑO Nelly, (2005) "Formulación para la elaboración de Salchichas Frankfurt con Diferentes Porcentajes de Emulsión de Soja y Estudio de la Aceptabilidad Organoléptica" 49 pp.
23. PÉREZ Daisy y VELASTEGUI Omayra (2001) "Desarrollo e Implementación del Sistema HACCP en la Elaboración de Embutidos Escaldados y Frescos (mortadela y chorizo) en la Fábrica La Ibérica' UTA – FCIAL 165 pp.
24. PÉREZ Rafael, (1974) "Métodos de Análisis de la Industria Charcutera", Editorial Acribia, S.A, Zaragoza – España, 152 pp.
25. PRÁNDL Oskar (1994) "Tecnología e Higiene de la Carne" Edición "única, Editorial Acribia, Zaragoza – España, 854 pp.
26. SAINZ Rufo (1980) "Chacinería Práctica" Edición Sexta, Editorial Sinter S.A., Barcelona – España, 215 pp.
27. SALAZAR Diego (2008) "Compendio de Tecnología de Cárnicos", Edición Única, Ambato Ecuador.
28. SALTOS Aníbal (1982) "Diseño Experimental", Edición única, Ambato – Ecuador, 111 pp.
29. SALTOS Aníbal (1993) "Visión de Conjunto sobre Preservación de Alimentos", Edición única, Ambato – Ecuador, 111 pp.
30. SALTOS Aníbal (2007) "Sensometría en Alimentos", Edición única, Ambato – Ecuador, 125 pp.
31. SANDOVAL Luis Ignacio (1980) "Estudio de los Parámetros Físico- Químicos de Calidad para Salchicha, Mortadela y Jamón Comunes, UTA FCIAL, Ambato, 162 pp.
32. WERNER Frey (1983), "Elaboración Fiable de Embutidos"; Editorial Acribia S.A, Primera. Edición, Zaragoza – España, 194 pp.
33. WIRTH F, y otros (1992) "Tecnología de los Embutidos Escaldados", Edición "única, Editorial Acribia S.A., Zaragoza – España, 237 pp.
34. YAGUARGOS Lenin (2006) "Análisis de Factibilidad para la Industrialización de la Fábrica Artesanal de Embutidos San Damián". UTA –FISEI, Ambato, 174 pp.
- INTERNET**
35. BARRENO BRAVO Monserrat, (2006) "Novedades en la obtención del Registro Sanitario", Disponible en: http://www.fedexpor.com/img/req_permiso_sanitario.pdf
36. Ciencia y Tecnología OEA (2003), "Procesamiento de carnes y embutidos", , Oficina de Ciencia y Tecnología, Organización de los Estados Americanos Disponible en: http://www.science.oas.org/oea_gtz/LIBROS/EMBUTIDOS/cap28.htm
37. Codex Alimentarius (1997) "Sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP) y directrices para su aplicación", Disponible en: <http://www.fao.org/DOCREP/005/y1579s/y1579s03.htm>
38. Diario HOY, Noticias de Ecuador, (1990 – 2009) Disponible en: <http://www.hoy.com.ec/noticias-ecuador/el-consumo-de-embutidos-alcanza-los-120-millones-280616-280616.html>
39. GALBRAITH y SINGER (1880) "Introducción a la economía" Disponible en: <http://www.zonaeconomica.com/definicion/economia>
40. GIMÉNEZ Carlos, VÁZQUEZ, Juan Carlos,(1995) "Costos para Empresarios" Disponible en: <http://www.infomipyme.com/Docs/GT/Offline/Empresarios/costos.htm>
41. LUNA MARTÍNEZ María Victoria, "Registro sanitario de alimentos, cosméticos, artículos de aseo y uso personal", Disponible en: http://bvs.sid.cu/revistas/ali/vol11_2_97/ali13297.htm
42. MOLINA María José (2007) Disponible en: <http://www.molwick.com/es/metodos-cientificos/120-tipos-metodos-cientificos.html#texto>
43. Pro Chile "Perfil De Mercado Embutidos - Ecuador" (2007), Disponible en: http://www.prochile.cl/documentos/pdf/ecuador_embutidos_2007.pdf
44. Reglamento De Registro Y Control Sanitario, (2001), Disponible en: <http://www.ecomint.com.ec/sanita.htm>
45. Requisitos Y Trámites Para Obtener El Registro Sanitario, http://www.aebe.com.ec/data/files/DocumentosPDF/HistorialNoticias/2007/ENE07/obtencion_registro_sanitario.pdf
46. RUANO ALCALÁ José Felipe, (2005), "La Distribución Alimentaria en Ecuador", Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en Quito, Disponible en: <http://www.icex.es/.../ld%20370685%20EM%20Distribucion%20Alimentaria%20Ecuador>.
47. Secretaria de Economía (1997), "Historia del Giro", Disponible en: http://www.contactopyme.gob.mx/guiasempresariales/guia_s.asp?s=14&guia=12&giro=1&ins=228
48. SIEGFRIED G. MÜLLER & Mario A. Ardoíno, (2009) "Procesamiento De Carnes Y Embutidos Elaboración Estandarización Control De Calidad", Disponible en: http://www.science.oas.org/oea_gtz/libros/embutidos/cap28.htm
49. ULRICH HUSSEIN Susan Shoreh, (2009), Disponible en: <http://alimentosdemetal.blogspot.com/2009/05/elaboracion-de-productos-carnicos.html>